

좁은산사나무엽의 약효성분(I)

오인세 · 김일혁*

중앙대학교 약학대학

(Received August 9, 1993)

Pharmaco-Constituents of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* Leaves(I) —The Constituents from Ether Fraction—

In Se Oh and Il Hyuk Kim

College of Pharmacy, Chungang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—For the investigation of medicinal resources in *Crataegus* species, the present study was carried out to evaluate the pharmaco-constituents in the leaves of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* (Rosaceae). Fruits has folk medicine in Korea. From the Et₂O fraction of MeOH extract, a new compound, apigenin-8-C-(6"-acetyl)-β-D-glucopyranoside, named psilosin and three known compounds, ursolic acid, phytosterol complex and (–)-epicatechin were isolated and identified on the basis of their physico-chemical properties and spectroscopic evidences (UV, IR, NMR and mass etc.) in comparison with authentics, respectively.

Keywords □ *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* (Rosaceae), leaves, psilosin, ursolic acid, phytosterol, (–)-epicatechin.

우리나라 자생약품식물인 좁은산사나무 *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* (Rosaceae)는 낙엽, 활엽 소교목이고, 꽃은 방산화서로 5~6월에 백색으로 핀다. 과실은 이과로 구형 또는 난형이며 9~10월에 붉게 익는다. 수직적으로는 표고 100~900 m, 수평적으로는 전남, 강원도 이북에 야생하고 있다.¹⁾

우리나라에서는 상기의 좁은산사나무를 비롯하여 8종의 산사나무속 식물들이 야생 또는 자생한다. 이들 식물의 성숙한 과실을 채취, 건조하여 생약에서 산사자(*Crataegi Fructus*)라 하여 중국원산인 북산사(*C. pinnatifida* var. *major*의 과실), 남산사(*C. cuneata*의 과실)와 함께 건위, 소화, 정장약 등으로 많이 사용하고 있다. 유럽에서도 *C. oxyacantha*, *C. curvisepala* 등의 과실이 약용되고 있다.²⁻⁹⁾

유럽산 산사는 잎과 꽃의 추출물을 순환기 질환인

고혈압, 협심증, 부정맥, 관상동맥 경화증, 고 cholesterol혈증등의 치료에 사용하고¹⁰⁻¹⁶⁾있으며, 심장장애와 순환기계 부전의 초기증상을 치료하는데 있어 효과가 있는 성분으로서 hyperoside, quercetin, vitexin, vitexin-rhamnoside, (–)-epicatechin¹⁷⁻¹⁸⁾을 함유하는 것으로 보아 산사나무 제제의 순환기 질환에 대한 치료제로서의 관심이 높아지고 있는데 비하여 국내 자생종에 대한 천연물 약품화학적 연구는 거의 이루어지지 않고 있다.

이에 저자는 새로운 국산의약자원의 개발과 활용이란 차원에서 자원이 풍부한 산사나무의 일종이며 우리나라 자생 약용식물인 좁은산사나무의 약효성분을 규명하고자 먼저 그 엽에 대한 천연물 약품화학적 연구에 착수하여 MeOH 엑스의 Et₂O 분획에서 4종의 화합물을 분리하고 이들의 이화학적 실험, UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, mass의 spectral data 및 표품과의

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

Table I— ^{13}C -NMR spectral data of Compounds I and II(pyridin- d_5 , 50MHz)

Carbon No.	Compound I	Compound II
C- 1	39.0	37.8
2	23.5	32.5
3	78.0	71.2
4	39.4	42.4
5	53.4	141.9
6	18.7	121.1
7	33.5	32.2
8	39.9	32.1
9	47.9	50.4
10	37.2	36.8
11	23.8	21.3
12	125.5	40.0
13	139.2	42.4
14	42.4	56.9
15	29.9	24.5
16	23.8	28.5
17	47.9	56.2
18	55.7	19.5*
19	31.0	11.9
20	29.9	36.3
21	28.0	18.9*
22	37.3	32.2
23	23.8	26.3
24	17.4	46.0
25	17.4	29.4
26	15.6	19.9*
27	23.8	19.1*
28	179.8	23.3
29	21.3	12.1
30	23.5	

CH_3), 2.65(1H, d, $J=11.3$ Hz, H-18),
3.45(1H, t, $J=7.8$ Hz, H-3), 5.49(1H, t,
H-12)

^{13}C -NMR : see Table I

Compound II의 단리—Compound I을 분취하고
여액을 감압농축한 후 MeOH로 재결정하여 mp
163~165°의 무색침상결정 Compound II(2 mg)를 얻
었다.

IR : $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

3450(—OH), 2950, 1470, 1380(C-H), 1050(C-
O)

^1H -NMR : Pyridine- d_5 . δ ppm

0.64(3H, s, CH_3), 0.85–0.89(9H, m, CH_3
 $\times 3$), 1.00(3H, s, CH_3),
1.06(3H, s, CH_3), 3.85(1H, m, H-3), 5.42(1
H, d, $J=4.1$ Hz, H-6)

^{13}C -NMR : see table I

Gas chromatography :

Column : OV-17($\phi 2.6$ mm \times 1.1 m)

Column temp. : 250°C \rightarrow 290°C

Injection temp. : 270°C

Carrier gas : N_2

Flow rate : 60 ml/min.

Detector : FID

Compound III의 단리—fr. 4에서 Mg+HCl반응에
양성임을 관찰하고 Sephadex LH-20 column chro-
matography(2 cm ϕ \times 30 cm, solvent MeOH)하여 fr.
41 \rightarrow fr. 44까지 얻었다. 이중 fr. 42를 MeOH로 재결
정하여 mp 216~218°의 미황색 결정 Compound III
(174 mg)을 얻었다.

mp : 216~218°

Anal. calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ H_2O : C : 56.08%, H : 4.
91%

Found : C : 56.31%, H : 4.63%

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -24.0^\circ$ ($c=0.5$, in pyridine)

IR : $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

3400(—OH), 2930(C-H), 1654(C=O), 1728,
1240(COCH $_3$), 1614, 1507,
1429(C=C), 1110(C-O)

UV : λ_{max} nm

MeOH : 268.0(1.04), 332.0(1.
16)

MeOH+NaOMe : 279.0(1.25), 329.0(0.
83), 392.0(1.65)

MeOH+NaOAc : 279.0(1.49), 378.0(0.
95)

MeOH+NaOAc+ H_3BO_3 : 270.0(1.13), 321.0(0.
96)

MeOH+ AlCl_3 : 275.0(0.97), 303.0(0.
82), 347.0(1.11), 382.0
(0.93)

MeOH+ AlCl_3 +HCl : 276.0(0.95), 302.0(0.
86), 343.0(1.11), 381.0
(0.81)

Table II—¹³C-NMR spectral data of Compounds III and IV(DMSO-d₆, 50MHz)

Carbon No.	Compound III	Compound IV
C- 2	164.0	77.9
3	102.7	64.8
4	182.2	28.1
5	160.8	156.1*
6	98.4	94.9
7	162.8	155.6*
8	104.3	94.0
9	156.2	156.4*
10	104.3	98.4
1'	121.8	130.5
2'	128.7	114.6
3'	116.1	144.3
4'	161.3	144.4
5'	116.1	114.8
6'	128.7	117.8
Glucose		
1"	73.8	
2"	70.9	
3"	78.6	
4"	70.5	
5"	79.7	
6"	64.2	
COCH ₃	170.5	
	20.8	

* Assignments in each column are reversible

Mass(m/z) : 475(M⁺ + 1), 415, 283, 165, 118.

¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm

13.13(1H, s, 5-OH), 7.94(2H, d, J=8.4 Hz, H-2', 6'),
6.92(2H, d, J=8.4 Hz, H-3', 5'), 6.71(1H, s, H-3),
6.29(1H, s, H-6), 4.77(1H, d, J=9.8 Hz, H-1"), 1.89(3H, s, acetyl)

¹³C-NMR : see Table II

Compound IV의 단리—Fr. 43을 감압농축한 후 H₂O로 재결정하여 조결정을 얻은 다음 다시 Sephadex LH-20 column chromatography(1 cm φ×30 cm, solvent EtOH)로 fr. 431과 fr. 432로 분리하였다. fr. 432를 감압농축한 후 H₂O로 재결정하여 mp 246~248°의 무색침상 결정 Compound IV(210 mg)를 얻었다.

mp : 246~248°

Anal. calcd. for C₁₅H₁₄O₆ : C : 62.05%, H : 4.87%

Found : C : 61.88%, H : 4.76%

[α]_D²⁰ = -54.0° (c=0.5, in EtOH)

IR = ν_{max}^{KBr} cm⁻¹

3450(-OH), 2950(C-H), 1625, 1525, 1470(C=C), 1440(CH₂)

Mass(m/z) : 290(M⁺), 272, 152, 139, 123

¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm

2.59(2H, m, H-4), 4.00(1H, d, J=3.4 Hz, H-3), 4.74(1H, s, H-2),
5.74(1H, d, J=2.2 Hz, H-6), 5.90(1H, d, J=2.2 Hz, H-8),
6.66(2H, s, H-5',6'), 6.90(1H, s, H-2')

¹³C-NMR : see Table II

결과 및 고찰

Compound I—Compound I은 Liebermann-Buchard 반응에서 양성이고, IR 스펙트럼에서 3400(-OH), 2850(C-H), 1690(-COOH), 1390(-CH₃) cm⁻¹의 흡수대를 나타내었으며, mass 스펙트럼^{19, 21)}에서 m/z 456(M⁺)의 molecular ion peak를 관찰하고, triterpenoid fragment의 전형적인 형태인 retro-diels alder fragmentation에 의한 m/z 248, 207 fragment ion peak와 여기에서 carboxyl 기가 탈락된 m/z 203 fragment ion peak를 관찰하였으므로 triterpenoic acid로 추정할 수 있었다.

¹H-NMR^{22,23)}에서의 0.88 ppm에서 1.24 ppm 사이에서 7개의 angular methyl signal을 관찰하였고, 5.49 ppm에서 olepinic proton, 3.45 ppm에서 J=7.8 Hz의 H-3 methine proton을 관찰하여 3-OH가 β결합된 ursane type의 triterpenoid로 추정되었다.

¹³C-NMR²⁴⁾에서는 179.8 ppm에서 C-28의 carboxyl 기와 C-12, C-13의 이중 결합에 의한 139.2와 125.5 ppm에서 확인되었다. C-27의 methyl기가 C-19에 결합되어 있는 methyl기에 근접되어 있기 때문에 oleanolic acid에 비하여 2.4 ppm upfield shift되어 ursane type으로 추정하였다.

따라서, 분자식 C₃₀H₄₈O₃, mp260~262°인 Com-

ound I은 ursolic acid로 동정하였다.

Compound II—Compound II는 Liebermann-Buchard 반응에 양성이고, IR 스펙트럼에서 3450(—OH), 2950, 1470, 1380(C-H), 1050(C-O) cm^{-1} 의 강한 흡수대를 나타내었다.

$^1\text{H-NMR}$ 에서도 0.64 ppm과 1.06 ppm 사이에서 6개의 angular methyl signal을 관찰할 수 있었으며, 5.42 ppm에서 이중결합에 의한 signal을 관찰하였고 $^{13}\text{C-NMR}$ 에서도 71.2 ppm에서 C-3, 141.9, 121.1 ppm에서 C-5,6의 이중결합을 관찰할 수 있었고, 11.0 ppm \rightarrow 60.0 ppm 사이에서 aliphatic carbon signal을 관찰할 수 있었다.

이상과 같은 결과는 이물질이 phytosterol의 일종임을 시사하는 것이었으며, 대부분의 phytosterol은 analog들의 혼합체로 분리 보고되고 있으므로 gas chromatography를 하였다.

표품과의 gas chromatography를 통한 직접비교에서 Compound II는 β -sitosterol(93.75%), campesterol(3.87%) 및 stigmasterol(2.38%)의 혼합체임을 확인할 수 있었다.

Compound III—Compound III은 $\text{Mg} + \text{HCl}$ 반응에 양성이며, IR 스펙트럼에서의 전형적인 flavonoid 양상을 나타내었고 1728, 1240 cm^{-1} 에서 acetyl로부터 기인하는 흡수대를 나타내었다. 또한, UV 스펙트럼에서 flavone 유도체의 특징적인 흡수대인²⁷⁾ 268 및 332 nm에서의 흡수가 관찰되었고, shift 시약인 NaOMe를 가했을 때 band I의 극대파장이 392 nm로 60 nm 장파장 이동하고 intensity가 증대하므로 C-4' 위치에 OH가 존재함을 알 수 있었고, NaOAc를 가했을 때 Band II가 279 nm로 11 nm 장파장 이동하므로 C-7 위치에 OH가 존재함을 알 수 있었다. 또한 AlCl_3 를 가했을 때 318 nm로 49 nm 장파장 이동하였으며 이 극대파장은 HCl을 가해도 변화가 없었으므로 C-5 위치에 OH가 존재하는 apigenin type^{27,28)}의 flavone으로 추정되었다.

SIMS에서 molecular ion peak가 m/z 475($\text{M}^+ + 1$)에서 나타났으며, EIMS에서 base peak m/z 283으로 CH_2 잔기를 갖는 aglycone fragment ion peak를 관찰하고 retro-diels alder fragmentation에 의한 m/z 165, 118 fragment ion peak를 관찰함으로써 C-glycosyl apigenin으로 추정되었다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼²⁹⁾에서 7.94 ppm과 6.92 ppm에서 나타나는 doublet signal은 J value가 각각 8.4 Hz이고 2 H에 해당하므로 apigenin의 B ring의 2', 6' 및 3', 5' proton으로 assignment할 수 있었으며, 이외에도 6.71 ppm 및 6.29 ppm에서 나타나는 두개의 singlet signal은 각각 1 H에 해당하며 H-3과 H-6 또는 H-8으로 assignment할 수 있었다. 또한 1.89 ppm에서 acetyl기³⁰⁾로부터 유래하는 signal을 assignment할 수 있었고, 4.77 ppm에서 glucose anomeric proton이 $J=9.8$ Hz로 나타나므로 C-glycoside로서 β 결합하고 있음을 알 수 있었다.

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서도 apigenin에 해당하는 signal 이외에 hexose에 해당하는 signal과 acetyl기로부터 유래하는 170.5와 20.8 ppm이 관찰되었으며, 당의 C-6"의 signal이 2.7 ppm downfield shift하였고 C-5의 signal은 1.7 ppm upfield shift하여 glucose 6번에 acetyl기가 결합³¹⁻³³⁾되어있음을 알 수 있었다.

가수분해산물은 SIMS에서 m/z 433($\text{M}^+ + 1$)의 molecular ion peak를 관찰할 수 있었고, $^1\text{H-NMR}$ 에서도 Compound III의 것과 일치하지만 Compound III에서 관찰되었던 1.89 ppm의 acetyl signal은 관찰할 수 없었으며, IR 스펙트럼에서도 Compound III의 IR pattern과 전반적으로 유사하였지만 acetyl기로 인해 나타났던 1728과 1240 cm^{-1} 에서의 흡수대는 관찰할 수 없었다.

따라서, 분자식 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, mp 216-218°인 Compound III은 apigenin-8-C-(6"-acetyl)- β -D-glucopyranoside의 구조를 갖는 것으로 천연에서 처음 분리된 신물질로 확정하였다.

Compound IV—Compound IV는 $\text{Mg} + \text{HCl}$ 반응에서 양성이며, IR 스펙트럼에서 3450(—OH), 2950(C-H), 1625, 1525, 1470(C=C), 1440(CH_2) cm^{-1} 등의 흡수대를 나타내었다.

Mass 스펙트럼에서 m/z 152, 139의 fragment ion peak를 관찰하여 catechin류³⁴⁾로 추정하였다.

$^1\text{H-NMR}$ ³⁵⁾에서는 6.91 ppm에서 나타나는 singlet signal은 H-2', H-5'와 H-6'의 proton으로 assignment할 수 있었고, 5.90 ppm과 5.74 ppm에서 나타나는 doublet signal은 H-8과 H-6의 proton으로 assignment할 수 있었다. 4.74 ppm에서의 singlet signal은 H-2 proton, 4.00 ppm에서의 doublet signal은 $J=3.4$

Hz의 H-3 proton으로 assignment할 수 있었고, 2.59 ppm에서의 multiplet signal은 2H에 해당하며 H-4 proton으로 assignment할 수 있었다.

¹³C-NMR³⁶⁾에서 C-2, C-3 및 C-4의 signal이 각각 77.9, 64.8 및 28.1 ppm에서 나타나고, C-1'의 signal이 130.5 ppm에서 나타나므로 문헌치와 일치함을 알 수 있었다. 또한 비선광도가 -54.0(c=0.5 in pyridine)으로 측정되었다.

따라서, 분자식 C₁₅H₁₄O₆, mp 246~248°인 Compound IV는 (-)-epicatechin으로 동정하였다.

결 론

우리나라 자생 약용식물의 하나인 좁은산사나무 *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* 엽에서 4종의 화합물을 분리하여 이화학적 실험 및 spectral data(UV, IR, NMR, Mass, etc.)를 통하여 Compound I은 mp : 260~262°, C₃₀H₄₈O₃, [α]_D²⁰ = +52.0° (in EtOH)인 ursolic acid, Compound II는 phytosterol complex, Compound III은 mp : 216~218°, C₂₃H₂₂O₁₁, [α]_D²⁰ = -24.0°(in pyridine)인 apigenin-8-C-(6"-acetyl)-β-D-glucopyranoside 그리고 Compound IV는 mp : 246~248°, C₁₅H₁₄O₆, [α]_D²⁰ = -54.0°(in EtOH)인 (-)-epicatechin임을 확인하였으며, 이들 성분은 상기 좁은산사나무(*Crataegus pinnatifida* var. *psilosa*)엽에서는 처음으로 분리, 동정한 것이며, Compound III은 새로운 flavone배당체로서 psilosin으로 명명하였다.

문 헌

- 1) 문교부; 한국식물도감 5, 581 (1965).
- 2) 李昌福; 大韓植物圖鑑, 鄉文社, 456 (1979).
- 3) 陸昌洙; 韓國藥品植物源圖鑑, 進明出版社, 173 (1981).
- 4) 鄭台鉉; 韓國植物圖鑑, 新志社, 217 (1957).
- 5) 中井猛進; 朝鮮森林物編(第2卷), 朝鮮梨科植物, 3 (1976).
- 6) 金一赫等; 藥品資源植物, 187 (1967).
- 7) 上海科學技術出版社小學館, 中藥大辭典, 日本小學館(東京), 1907 (1985).
- 8) 堀田曠; 世界有用植物辭典, 平凡社(東京), 324 (1989).
- 9) 柴田承二; 藥用天然植物, 南山堂(東京), 137 (1982).
- 10) 藥品植物學研究會, 藥品植物學名論, 韓國學習教材社(서울), 194 (1984).
- 11) 生藥學 研究會, 現代生藥學, 韓國學習教材社(서울), 124 (1985).
- 12) Guseinov. D.Ya; *Crataehus* as an antiarrhythmia agent, *Kardiol.*, 6(5), 82, (1966).
- 13) Kaverinia N.V., Senova Z.P., Kiseleva T.L.; Study of a specific antiarrhythmic activity displayed by drug from *Crataegus*, *Farmatsiya*, 37(6), 33 (1988).
- 14) William boerithe M.D.; *Materia Medica with, Sett Dey & Co. (Calcutta)*, 237 (1976).
- 15) James A. Duke; *Handbook of medicinal Herbs, CRC press (Boca Raton)*, 146 (1985).
- 16) Hairrddin J., Anton O., Walter R.; The coronar effect of *Crataegus* extracts, *Arzneimittel-Forsch.*, 6, 98 (1956).
- 17) 柴田承二; 生物活性天然物質, 醫齒藥出版株式會社, 429 (1982).
- 18) 市麿承二; 藥用天然物質, 南山堂(東京), 307 (1982).
- 19) Karliner, J., Djerassi, C.; Terpenoid LVII. Mass spectral and nuclear magnetic resonance studies of pentacyclic triterpene hydrocarbons, *J. Am. Chem. Soc.*, 31, 1945 (1966).
- 20) Carl, D. and Wilson, J.M.; Mass spectrometry in structural and stereochemical problems unsaturated pentacyclic triterpenoids, *Tetrahedron Letters*, 7, 263 (1962).
- 21) Courtney, J.L., Shannon, J.S.; Studies in mass spectrometry, *Tetrahedron Letters*, 1, 13 (1963).
- 22) Sun, X., Yao, Q.; Chemical constituents of seeds of *Crataegus pinnatifida*, *Zhongcaoyao*, 18(10), 441 (1987).
- 23) Hisashin, K., Hideo, T. and Shigeki, S.; Pentacyclic triterpenoids from *prunella vulgaris*, *Phytochemistry*, 26(4), 1107 (1987).
- 24) Kang, S.S.; ¹³C-NMR spectroscopy of amytns, *Kor. J. Pharmacogn.*, 18(3), 151 (1987).
- 25) Slomp, G., Mackellan, F.A.; Nuclear Magnetic Resonance studies on some hydrocarbon side chains of steroids, *J. Am. Chem. Soc.*, 84, 204 (1962).
- 26) Shoolery, J.N., Rogers, M.T.; Nuclear Magnetic Resonance spectra of steroids, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 5121 (1958).
- 27) Mabry, J., Markham, K.R. and Thomas, M.B.; The

- systematic identification of flavonoids, Springer-Verlag, 35 (1970).
- 28) Markham, K.R.; Techniques of flavonoid identification, Academic press, 36 (1982).
- 29) Kashnikova, M.V.; Flavonoids of the flowers of *Crataegus sanguinea*, *Khim. Prir. Soedin.*, **1**, 108 (1984).
- 30) Kashnikova, M.V., Schichenko, V.I., Glyzin, V.I., Samylina, I.A.; Acetylvitexin a new flavonid from the flowers of *Crataegus sanguinea*, *Khim. Prir. Soedin.*, **1**, 108 (1984).
- 31) Nikolov, N., Seligmann, O., Wagner, H., Horowitz, R.M., Gentili, B.; New flavonoid glycosides from *Crataegus monogyna* and *Crataegus pentagyna*, *Planta Medica*, **44**(1), 50 (1982).
- 32) Harborne, J.B., Mabry, T.J.; The Flavonoids-Advances in Research-chapman and hall, 37 (1982)
- 33) Chari, V.M., Harborne, J.B. and Williams, C.A.; Identification of 6"-O-acetyl-8-C-galactosylapigenin in *Briza media*, *Phytochemistry*, **19**, 983 (1980).
- 34) Young, H.S., Park, J.C. and Choi, J.S.; Isolation of (+)-catechin from the roots of *Rosa rugosa*, *Kor. J. Pharmacogn.*, **18**(3), 177 (1987).
- 35) Do, J.C., Son, K.H., Kang, S.S.; Studies on the constituents of roots of *Rubus parvifolius*, *Kor. J. Pharmacogn.*, **19**(3), 170 (1988).
- 36) Porter, L.J., Newman, R.H., Foo, L.Y. and Wong, H.; Polymericproanth-ocyanidins, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1217 (1982).