

붉은대극의 페놀성 화합물

안병태, 이경순*

충북대학교 약학대학

Phenolic Compounds from *Euphorbia ebracteolata*

Byung Tae Ahn and Kyong Soon Lee*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

Abstract - We have previously reported the isolation of nine hydrolysable tannins and five flavonoids from the aerial parts of *Euphorbia ebracteolata*. Further investigation about the same plant has led to the isolation of 5-*O*-caffeoyl quinic acid, kaempferol 3-*O*-(2'-*O*-galloyl- β -D-glucoside) and euphorbin A.

Key words - *Euphorbia ebracteolata*: Euphorbiaceae; flavonoid; 5-*O*-caffeoyl quinic acid; kaempferol 3-*O*-(2'-*O*-galloyl- β -D-glucoside); euphorbin A.

붉은대극(*Euphorbia ebracteolata* Hayata)은 그 뿌리를 한방에서 狼毒이라 하여 결핵 및 부종 치료제 등으로 사용하는 중요한 생약이나 매우 희귀하다. 우리나라에서는 붉은대극이 아직까지 경기도 용진군 풍도리에만 자생하는 것으로 알려져 왔으나 저자 등은 전남 백양산, 내장산, 만덕산, 강원 가리왕산, 도계 및 충북 옥천 등을 비롯하여 8곳의 자생지를 내륙에서는 처음으로 발견하여 그 분류 및 분포를 학계에 보고한 바 있으며¹⁾ 또한 이 식물의 지상부로부터 14종의 가수분해형 탄닌 및 프라보노이드를 분리하여 보고한 바 있다.^{2,3,4)} 전보에 이어 이 식물의 지상부로부터 분리한 3종의 페놀성 화합물에 대하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료, 기기 및 시약 - 전보^{2,3,4)} 참조

추출 및 분리 - 전보³⁾에서 보고한 바와 같이 붉은대극의 지상부를 수성 아세톤으로 추출하여 4개의 fraction으로 분획하였다. 그중 fraction 1로부터

화합물 1(770 mg)을, fraction 3으로부터 화합물 2(365 mg)를, fraction 4로부터 화합물 3(2.5 g)을 각각 분리 하였다.

화합물 1 - 백색분말(H₂O), ¹H-NMR(DMSO-*d*₆+D₂O) δ : 7.45(1H, d, *J*=16Hz, H-7'), 7.05(1H, d, *J*=2Hz, H-2'), 6.92(1H, dd, *J*=2, 8Hz, H-6'), 6.75(1H, d, *J*=8Hz, H-5'), 6.20(1H, d, *J*=16Hz, H-8'), 5.15(1H, m, H-5), 3.85(1H, dd, *J*=6, 13Hz, H-3), 3.50(1H, m, H-4), 1.75-2.05(4H in total, m, H-2, 6); ¹³C-NMR(acetone-*d*₆+D₂O) δ : 181.0(C-7), 168.2(9'), 148.2(C-4'), 146.0(C-7'), 145.8(C-3'), 127.0(C-1'), 122.5(C-6'), 116.1(C-5'), 115.2(C-2'), 114.7(C-8'), 75.2(C-1), 72.7(C-4), 72.3(C-5), 68.5(C-3), 39.0(C-6), 36.5(C-2).

화합물 2 - 황색분말(H₂O), FeCl₃: 청록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색, mp 227-229°; IR ν_{\max}^{kBr} cm⁻¹: 3300(OH), 1650(C=O); Positive FAB-MS *m/z* 601(M+H)⁺; UV(nm) λ_{\max} (MeOH): 268, 292(sh), 348, λ_{\max} (AlCl₃): 270, 305(sh), 349, 395, λ_{\max} (AlCl₃+HCl): 272, 350, 400, λ_{\max} (NaOAc): 275, 299, 360(sh); ¹H-

*교신저자 : Fax 0431-68-2732

Table I. ^{13}C -NMR data for astragalín and compound 2 in $\text{DMSO}-d_6$

Compound Carbon No.	Astragalín ⁶⁾	2
2	156.6	156.8
3	133.5	133.0
4	177.7	177.5
5	161.2	161.3
6	98.9	98.6
7	164.2	165.7
8	94.0	94.2
9	156.6	156.8
10	104.3	104.4
1'	121.2	121.2
2'	131.2	131.4
3'	115.3	115.6
4'	160.0	160.3
5'	115.3	115.6
6'	130.2	131.4
1''	101.1	99.0
2''	74.3	74.5 ^a
3''	76.4	74.7 ^a
4''	70.0	70.4
5''	77.6	78.0
6''	60.9	61.9
Galloyl-1		120.1
-2		109.4
-3		145.7
-4		138.7
-5		145.7
C=O		109.4

^aAssignments of chemical shifts may be reversed.

NMR($\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 4.93(1H, t, $J=8\text{Hz}$, H-2''), 5.30(1H, d, $J=8\text{Hz}$, H-1''), 6.21(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-6), 6.43(1H, d, $J=2\text{Hz}$, H-8), 6.92(2H, d, $J=9\text{Hz}$, H-3' and 5'), 7.06(2H, s, galloyl), 8.03(2H, d, $J=9\text{Hz}$, H-2', H-6'): ^{13}C -NMR: Table I 참조.

화합물 2의 산가수분해 - 시료 10 mg을 60% dioxane 10 ml와 c-HCl 2.5 ml에 용해시켜 수욕상에서 1시간 가열한 후 Ag_2CO_3 를 가하여 중화하였다. 중화하여 얻은 여액을 1/3로 농축한 후 EtOAc로 분획하여 EtOAc층에서 kaempferol 및 gallic acid를, 수층에서 glucose를 이들의 표준과 함께 TLC를 실시하여 확인하였다.

화합물 2의 부분가수분해 - 시료 100 mg을 0.1N NH_4OH 20 ml와 MeOH 5 ml에 용해시킨 후

30시간 실온에서 방치한 다음 농축하여 Toyoparl HW 40F column(20% MeOH, 50% MeOH)으로 가수분해산물인 gallic acid(1 mg) 및 astragalín(13 mg)을 얻어 표준과 직접 TLC 및 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ -NMR spectrum을 비교하여 동정하였다.

화합물 3 - 담황색무정형분말. ($[\alpha]_D^{27}$ -43.2(c=1.0 MeOH): ^1H -NMR(acetone- d_6) δ : 4.94(4/7H, d, $J=1\text{Hz}$) and 5.13(3/7H, s) (DHHDP-1), 6.21(4/7H, d, $J=1\text{Hz}$, DHHDP-3), 6.18(d, $J=8\text{Hz}$) and 6.26(d, $J=8\text{Hz}$) (glc-1), 6.53(br s, glc-1', valoneoyl and DHHDP-3), 6.19, 6.24, 7.00, 7.04, 7.09, 7.21, 7.27 (each s, valoneoyl), 6.84, 6.87, 7.11, 7.16, 7.17, 7.19, 7.20 (each s, galloyl).

화합물 3의 phenazine 유도체 합성 - 화합물 3(100 mg)을 10% AcOH-EtOH중에서 *o*-phenylenediamine(20 mg)과 실온에서 저어주면서 1시간 반응시킨 후 Sephadex LH-20 column에 걸어 80% ethanol로 용출시켜, *o*-phenylenediamine과 초산 및 기타 불순물을 제거한 다음, acetone:MeOH(1:1)로 용출시켜 황색분말의 phenazine 유도체(3a)를 얻었다.

화합물 3-phenazine(3a) - 담황색무정형분말, ($[\alpha]_D^{22}$ +49(c=0.3, MeOH): ^1H -NMR(acetone- d_6) δ : 7.15, 7.14, 7.06, 6.97, 6.90 (each 2H, s, galloyl), 7.02, 7.00, 6.32 (each 1H, s, valoneoyl), 7.50(1H, s, phe-3'), 7.90-8.02, 8.15-8.32(5H in total, m, phe-2'', 3'', 4'', 5'', phe-3), 6.14(d, $J=6\text{Hz}$, H-1'), 6.04(d, $J=8\text{Hz}$, H-1), 5.67(dd, $J=1, 6\text{Hz}$, H-2'), 5.60(dd, $J=8, 10\text{Hz}$, H-2), 5.56(m, H-3, H-4, H-4'), 5.42(dd, $J=1.4\text{Hz}$, H-3'), 4.95(dd, $J=5, 8\text{Hz}$, H-5'), 4.66(dd, $J=8, 13\text{Hz}$, H-6'), 4.48(br d, $J=11\text{Hz}$, H-6), 4.30(br d, $J=11\text{Hz}$, H-6), 4.28(m, H-5), 4.10(dd, $J=4, 13\text{Hz}$, H-6'); CD(c=0.01, MeOH): $[\theta]_{250} +9.8 \times 10^4$, $[\theta]_{288} -6.5 \times 10^4$, $[\theta]_{320} 0.9 \times 10^4$.

3a의 열수 가수분해 - 3a 60 mg을 H_2O 에 현탁시켜 80 °C에서 90분 가열한 후, 반응액을 냉각시켜 생성된 적색 침전을 여취한 다음 MeOH로 세척하여 건조한 뒤 IR을 측정하여 표준의 data와 비교하여

phenazine bislactone⁵⁾으로 동정하였다. 여액은 감압하에서 농축하여 Sephadex LH-20 column으로 정제하여 3b(35 mg)를 얻었다.

3a의 가수분해물(3b) - 담황색무정형분말, $[\alpha]_D^{22}$ -9.4(c=0.5, MeOH); ¹H-NMR(acetone-*d*₆ + D₂O) δ : 7.16, 7.12, 7.11, 7.10, 6.85 (each 2H, s, galloyl), 7.06, 6.87, 6.23 (each 1H, s, valoneoyl), 6.36(d, *J*=2Hz, H-1'), 6.26(d, *J*=8Hz, H-1), 5.71(dd, *J*=8, 10Hz, H-2), 5.58(m, H-3, 4), 4.85(br s, H-3'), 4.79(t, *J*=10Hz, H-6'), 4.55(dd, *J*=2, 12Hz, H-6), 4.44(t-like, *J*=10Hz, H-5, H-5'), 4.41(br s, H-4'), 4.31(dd, *J*=5, 12Hz, H-6), 4.12(br s, H-2'), 4.08(dd, *J*=8, 10Hz, H-6'); ¹³C-NMR (acetone-*d*₆ + D₂O) δ : 93.8(C-1), 94.7(C-1'), 110.3, 110.5, 110.7(each 2C), 110.9(4C) (galloyl C-2, 6), 119.7, 119.9, 120.2, 121.0, 121.4 (galloyl C-1), 139.4, 139.86, 139.88(2C), 140.3(galloyl C-4), 146.1, 146.2(2C), 146.34(4C), 146.4(galloyl C-3, 5), 165.8, 165.9, 166.3, 166.5, 167.1 (galloyl C-7), 116.7, 137.7, 167.9 (valoneoyl C-1, C-5, C-7 respectively), 117.3, 137.3, 147.2, 169.0 (valoneoyl C-1', C-5', C-4', C-7' respectively), 137.1, 143.9, 165.5 (valoneoyl C-2'', C-5'', C-7'' respectively).

화합물 3-phenazine(3a)의 Methanolysis-3a (150 mg)을 acetate buffer(pH 6.0)(2 ml)와 MeOH(17 ml)의 혼합용액에 녹여 37 °에서 84시간 방치한 후 반응액을 농축하여 묽은 염산에 현탁시켰다. 생성된 적갈색의 phenazine bislactone을 여과한 다음 여액을 EtOAc로 추출하여 감압농축하고 Sephadex LH-20 column(용매 30%-80% MeOH)에 걸어, methyl gallate⁶⁾(1 mg), 1,3,4,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucose³⁾(6 mg) 및 corilagin³⁾(5 mg)을 얻어, ¹H-NMR 및 TLC로 표품과 비교하여 동정하였다.

결과 및 고찰

화합물 1은 표품과 직접 대조하여(TLC, ¹H-NMR spectrum, ¹³C-NMR spectrum) 5-caffeoyl quinic acid로 동정하였다.

화합물 2는 Mg-HCl 및 Zn-HCl test에서 홍색을 나타내고 FeCl₃에 의해 汚綠色을 나타내는 등 flavonoid 확인반응에 양성을 나타내었으며, IR spectrum에서는 3300 및 1650 cm⁻¹에서 OH- 및 α , β -unsaturated carbonyl group에 의한 흡수를 나타냈으며 UV spectrum(MeOH)에서는 268nm 및 348nm에서 3-OH substituted flavonol 특유의 흡수 스펙트럼을 나타내었다.

화합물 2의 ¹H-NMR spectrum은 7.06 ppm에서 galloyl proton에 의한 2H분의 singlet signal이 관찰되며, aliphatic 영역에는 anomeric proton외에도 4.93 ppm에서 저자장 이동된 1H분의 proton signal을 포함하여 총 7H분의 proton signal이 관찰된다. 따라서 이 화합물은 1개의 galloyl기가 ester결합된 hexose가 aglycon 모핵에 결합하고 있는 것으로 추정된다.

이 화합물을 산가수분해하여 kaempferol 및 gallic acid를 확인하였으며, 부분가수분해하여 astragalol 및 gallic acid를 확인하였다. 또 positive FAB-MS에 있어서 *m/z* 286 및 287에서 kaempferol 및 [kaempferol+H]⁺에 해당하는 ion peak를, *m/z* 601에서 [M+H]⁺ ion peak를 나타내어 kaempferol glucoside에 gallic acid가 ester결합한 화합물임을 알 수 있었다. Gallic acid가 결합한 위치는 ¹³C-NMR data(Table I)에서 화합물 2의 당부의 2번 탄소가 astragalol에 비해 0.2 ppm 저자장 이동하고 1번과 3번은 각각 2.1, 1.7 ppm씩 고자장 이동한 것이 관찰되어 glucose의 2위로 추정되며, ¹H-¹H COSY spectrum에서 이를 재확인하였다.

이상의 결과를 종합하여 화합물 2는 kaempferol 3-*O*-(2''-*O*-galloyl- β -D-glucoside)로 동정하였으며 물리항수 및 스펙트럼 데이터는 문헌⁷⁾과 일치하였다.

화합물 3은 담황색 무정형 분말로 ¹H-NMR spectrum은 매우 복잡하나 δ 4.94(d, *J*=1Hz) 및 5.13(s)에 benzylmethine proton과, 6.21(d, *J*=1Hz) 및 6.53(s)에 olefinic proton의 signal을 나타내어 분자 내에 6원환 및 5원환 hemiacetal 평형의 DHHP(dehydrohexahydroxydiphenyl)기가 존재하는 것을 시사하고 있다.

Spectrum을 단순화하기 위하여 화합물 3을 geraniin³⁾의 경우에서와 마찬가지로 10% AcOH/EtOH 중에서 *o*-phenylenediamine과 반응시켜 phenazine 유도체(3a)를 합성하였다. 3a의 ¹H-NMR spectrum은 aromatic 영역에서 phenazine유래의 proton signal (δ 7.50(s, phe-3'), 7.90-8.02, 8.15-8.32 (5H in total, m, phe-2', 3', 4', 5', phe-3)) 외에 5개의 galloyl기 (δ 7.15, 7.14, 7.06, 6.97, 6.90 (each 2H, s)) 및 3개의 aromatic proton의 signal (δ 7.02, 7.00, 6.32 (each 1H, s))이 관찰되고 aliphatic 영역에서는 2개의 aromatic proton signal을 포함하여 2개의 당에 유래하는 14H분의 proton이 저자장 이동하여 관찰된다. 3a의 methanolysis 결과 phenazine bislactone 외에 methyl gallate, coriagin 및 1,3,4,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucose 등이 생성되었다.

이상 spectrum의 검토결과 및 methanolysis 결과를 종합하면 화합물 3은 분자내에 2개의 glucose moiety를 가지며, 이들 2개의 glucose에 5개의 galloyl기 및 1개의 DHHDP기 등이 ester결합한 화합물로 추정된다.

3a를 열수로 부분가수분해하여 phenazine부분을 떼어낸 3b의 ¹H-NMR spectrum은 역시 5개의 galloyl기 (δ 7.16, 7.12, 7.11, 7.10, 6.85 (each 1H, s))와 세개의 aromatic proton (δ 7.06, 6.87, 6.23 (each 1H, s)) 및 2개의 glucose를 나타내며 glucose I 및 II는 각각 ⁴C₁ 및 ¹C₄ conformation의 전형적인 coupling pattern을 보여준다.⁵⁾ 이들 glucose의 proton은 3a에 비해 glucose II의 2위(δ 4.12) 및 4위(δ 4.41)의 proton이 고자장으로 이동한 것으로 보아 화합물 3의 DHHDP기는 geraniin의 경우와 같이 glucose II의 2위 및 4위에 결합하고 있음을 알 수 있다. 또한 glucose I 및 glucose II의 ¹H-NMR spectrum data가 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose³⁾와 coriagin³⁾의 data와 거의 일치하는 점 및 3a의 methanolysis결과 등으로 보아 3b는 geraniin에서 DHHDP기가 떨어진 coriagin과 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucose의 2번째 galloyl기가 축합되어진 화합물로 생각된다. 따라서 3개의 aromatic proton은 valoneoyl group에

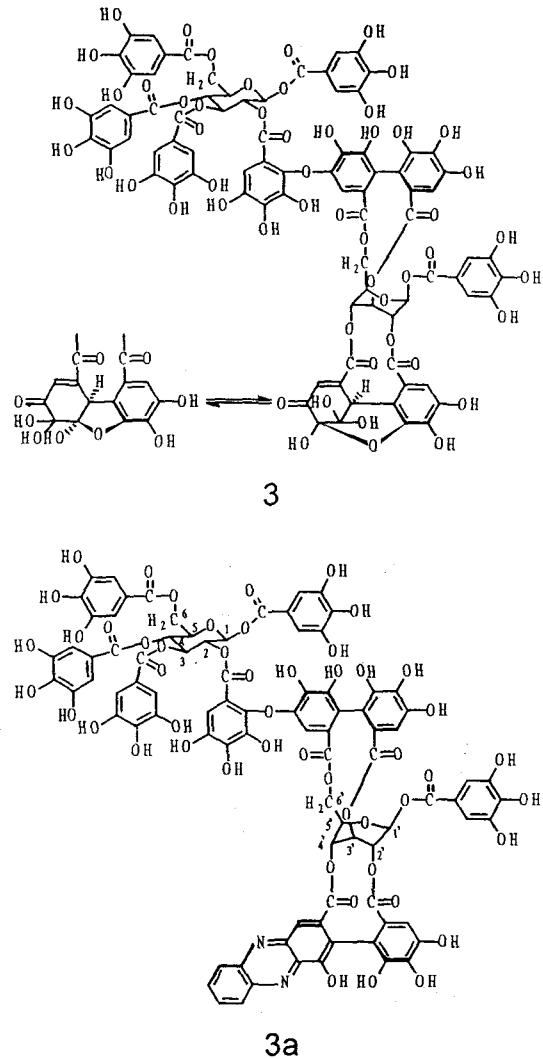


Fig. 1. Structure of 3 and 3a.

귀속된다. 이들의 결합위치는 hetero nuclear multiple-bond connectivity(HMBC) spectrum(Fig. 2)을 통하여 결정하였다. 즉 δ 4.79의 H-6'의 signal과 cross peak를 나타낸 δ 169.0의 carbonyl 탄소가 147.2(valoneoyl C-4') 및 137.3(valoneoyl C-5') ppm의 carbon⁸⁾과 각각 long-range coupling하고 있는 δ 6.23의 H_B의 proton signal과 cross peak를 나타냄으로써, 3b는 pentagalloyl glucose의 galloyl-2'의 탄소가 coriagin의 HHDP-4'의 hydroxyl기와 산화적으로 축합된 화합물로 생각되었다. 3a는 최근 A-

결론

붉은대극으로부터 분리한 화합물 1은 표품과 직접 대조하여 5-O-caffeoyl quinic acid로 동정하였으며, 화합물 2 및 3은 각종 분해반응 및 spectral data를 해석하여 각각 kaempferol 3-O-(2'-O-galloyl- β -D-glucoside) 및 euphorbin A로 동정하였다.

지금까지 저자 등에 의하여 붉은대극의 지상부로부터 분리된 화합물은 gallic acid, ellagic acid, 3-O-galloyl shikimic acid, 5-O-caffeoyl quinic acid, 1,3,4,6-tetra-O- and 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose, corilagin, tercatain, punicafolin, geraniin, euphorbin A, quercetin 3-O- β -D-glucoside(isoquercitrin), quercetin 3-O-rutinoside(rutin), kaempferol 3-O-rutinoside, kaempferol 3-O-(2'-O-galloyl- β -D-glucoside), quercetin 3-O-(2'-O-galloyl- β -D-glucoside), quercetin 3-O-(2'-O-galloylrutinoside)로 이중 quercetin 3-O-(2'-O-galloylrutinoside)는 자연계에서 처음으로 분리된 화합물이다.

인용문헌

1. 안병태, 김재길, 노재섭, 육창수, 이경순. (1996) 희귀 생약 붉은대극에 대한 분류학적 재검토. 생약학회지 27: 129-135.
2. 이상철, 안병태, 박용양, 이승호, 노재섭, 이경순, 유용걸. (1992) *Euphorbia ebracteolata*에 대한 생약학적 연구(I). 생약학회지 23: 126-131.
3. 안병태, 이상철, 박용양, 이승호, 노재섭, 이경순, 유용걸. (1992) *Euphorbia ebracteolata*에 대한 생약학적 연구(II). 생약학회지 23: 211-217.
4. Ahn, B. T., Oh, K. J., Ro, J. S. and Lee, K. S. (1996) New flavonoid from *Euphorbia ebracteolata* Hayata. *Planta Med.* (in press).
5. Okuda, T., Yoshida, T. and Hatano, T. (1982) Constituent of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. part 12. Hydrated structure and equilibrium of geraniin. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*: 9-14.
6. 안병태, 장분강, 이상철, 김재길, 노재섭, 이경순. (1996) 대극 지상부의 폐놀성 화합물. 약학회지 40:

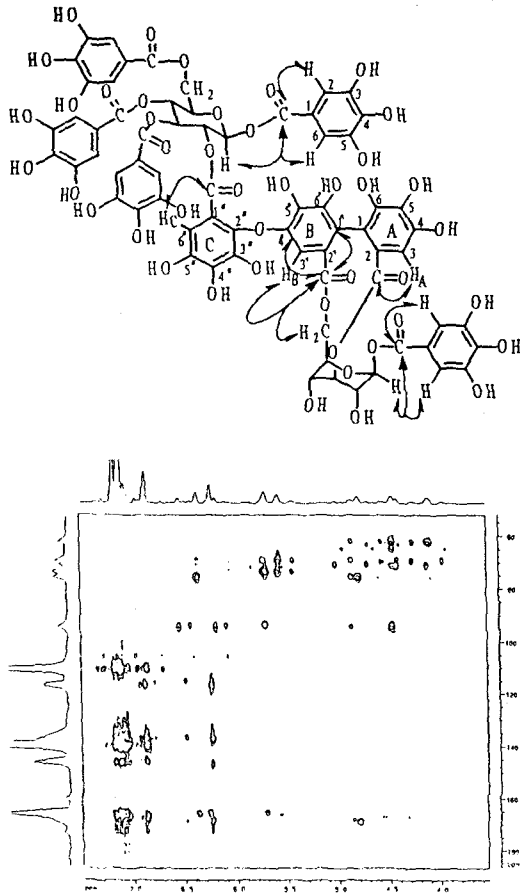


Fig. 2. HMBC spectrum of 3b(acetone- d_6 +D₂O).

gata 등이 큰땅빈대(*Euphorbia maculata*)로부터 분리한 emaculin A⁹⁾와 비교한 결과 구조 및 data가 일치하였다.

따라서 화합물 3은 pentagalloyl glucose의 galloyl-2'의 탄소가 geraniin의 HHDP-4'의 hydroxyl기와 산화적으로 축합된 화합물로 valoneoyl기 및 DHHDP기의 배위는 geraniin-phenazine과 3a의 CD spectrum이 다같이 250 nm에서 positive Cotton effect를, 290 nm에서는 negative Cotton effect를 나타내어 R configuration을 갖는 euphorbin A¹⁰⁾로 동정하였다. Euphorbin A는 Yoshida 등¹⁰⁾(1988)이 *E. hirta*로부터 분리한 바 있는 가수분해형 tannin dimer로 그 후 *E. tirucalli* 등¹⁰⁾으로부터도 분리된 바 있다.

- 170-176.
7. Isobe, T., Ito, N. and Noda, Y. (1980) Minor flavonoids of *Polygonum nodosum*. *Phytochemistry* 19: 1877.
 8. Lee, S. H., Tanaka, T., Nonaka, G. and Nishio-ka, I. (1990) Hydrolysable tannins from *Euphorbia thymifolia*. *Phytochemistry* 29: 3621-3625.
 9. Agata, I., Hanato, T., Nakaya, Y., Sugaya, T., Nishibe, S., Yoshida, T. and Okuda, T. (1991) Tannins and related polyphenols of euphorbiaceous plants VII. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 881-883.
 10. Yoshida, T., Chen, L., Shingu, T. and Okuda, T. (1986) Tannins and related polyphenols of Euphorbiceae plants. IV. *Chem. Pharm. Bull.* 36: 2940-2942.
 11. Yoshida, T., Yokoyama, K., Namba, O. and Okuda, T. (1991) Tannins and related polyphenols of euphorbiaceous plants. VII. *Chem. Pharm. Bull.* 39: 1137-1143.

(1996년 6월 4일 접수)