

내복자(Raphani Semen)로부터 Sinapic acid esters의 분리

김호경* · 강은정 · 고병섭

한국한의학연구원 검사사업팀

Isolation of Sinapic Acid Esters from Raphani Semen

Ho Kyoung Kim,* Eun Jung Kang and Byoung Seob Ko

Quality Control of Herbal Medicine Team, Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea.

Abstract – Two sinapic acid esters were isolated from the methanol extract of Raphani Semen. The structures were elucidated on the basis of spectroscopic methods ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMQC, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY and HMBC) and were identified as methyl sinapate (1) and $\beta\text{-D-(3-O-sinapoyl)fructofuranosyl-}\alpha\text{-D-(6-O-sinapoyl)glucopyranoside}$ (2). Compound 1 was first isolated from the genus of Raphanus.

Key words – Raphani Semen; methyl sinapate; $\beta\text{-D-(3-O-sinapoyl) fructofuranosyl-}\alpha\text{-D-(6-O-sinapoyl)glucopyranoside}$.

무우(*Raphanus sativus*)는 십자화과(Cruciferae)에 속한 일년생 또는 다년생 초본으로서 뿌리는 비대해지며 뿌리의 윗부분은 줄기이지만 경계가 뚜렷하지 않다. 과실은 빨모양의 삭과이고 그 안에 격각색의 종자가 들어 있으며 종자를 내복자(萊菔子 ; Raphani Semen)라고 하고 한국, 일본 등 세계 각국에 분포한다.

내복자(萊菔子)의 성분으로 methyl mercaptan, linoleic acid, linolenic acid, glycerin-sinapinic acid ester, raphanin, 28-homoteasterone 및 teasterone 등이 분리 보고되었고, 건위(健胃), 진해(鎮咳), 거담(祛痰) 작용이 있어 해수로 인한 기관지 천식, 가슴이 답답하고 더부룩한 증상 등의 치료목적에 쓰인다.^{1,4)}

HIT시험(Haemagglutination Inhibition Test)에서⁵⁾ 내복자의 MeOH 추출물이 influenza A에 대한 항바이러스 효과를 나타내어 활성 지향적으로 분리를 실시하던 중 2개의 sinapic acid esters를 분리하였으며, 이들의 각종 기기분석을 통하여 methyl sinapate (1)와 $\beta\text{-D-(3-O-sinapoyl)fructofuranosyl-}\alpha\text{-D-(6-O-sinapoyl)glucopyranoside}$ (2)로 구조를 결정하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 내복자(Raphani Semen)는 시중 한약건재상(경동시장)에서 구입하여 식물학적 감정을 거친 후 건조하여 실험재료로 사용하였다.

기기 및 시약 – Column chromatography용 silica gel은 Kieselgel 60(70~230 mesh, Merck), Amberlite XAD-4(Sigma), ODS(Lichroprep RP-18, Merck)를 사용하였고, TLC plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck)를 사용하였다. Negative-ion FAB-Mass Spectrometer는 VG70-VSEQ(England), NMR Spectrometer는 Bruker AM-500(Germany)을 사용하였다.

추출 및 분리 – 내복자 3 kg을 천연물 약품화학적 실험방법에 따라 실온에서 MeOH로 3회 반복 추출한 후 저온에서 감압농축하여 추출물(220.7 g)을 얻었다. MeOH 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 ether로 처리하여 H₂O층과 ether층으로 분획한 다음 수층분획을 Amberlite XAD-4를 사용한 column chromatography를 실시하여 H₂O, 20% MeOH, 40% MeOH, 60% MeOH, 80% MeOH 및 100% MeOH 분획으로 나누었다. 그 중 40% MeOH 분획물 (30 g)을 ODS

*교신저자 : Fax : 02-3442-0220

column chromatography(전개용매 : 60% MeOH→50% MeOH)를 실시하여 얻은 fraction을 다시 silica gel column chromatography(전개용매; CHCl₃ : MeOH : H₂O=80 : 25 : 2.5→CHCl₃ : MeOH : H₂O=80 : 25)를 실시하여 Compound 1(5.2 mg)과 Compound 2 (63 mg)를 분리하였다.

Compound 1 – Yellow amorphous powder, C₁₂H₁₄O₅; FAB(-)MS (*m/z*) : 237[M-H]⁻, 206[M-H-OMe]⁻; ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz) : δ 3.77 (3H, s, CO₂Me), 3.87 (6H, s, OMe), 6.39 (1H, d, *J*=15.9 Hz, H-8), 6.90 (2H, s, H-2, 6), 7.60 (1H, d, *J*=15.9 Hz, H-7); ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz) : 126.6 (C-1), 107.0 (C-2, 6), 149.5 (C-3, 5), 142.0 (C-4), 147.0 (C-7), 115.7 (C-8), 169.7 (C-9), 56.9 (OMe), 52.0 (CO₂Me).

Compound 2 – Yellow amorphous powder, C₃₄H₄₂O₁₉, FAB(-)MS (*m/z*): 753[M-H]⁻, 547[M-H-sinapoyl moiety]⁻, 385[M-H-sinapoyl moiety-glc]⁻, 341 [M-H-2×sinapoyl moiety]⁻; ¹H- and ¹³C-NMR (CD₃OD, 500 MHz and 125 MHz): Table I.

결과 및 고찰

Compound 1의 negative FAB-MS spectrum에서 *m/z* 237에서 [M-H]⁻ molecular ion peak, *m/z* 206

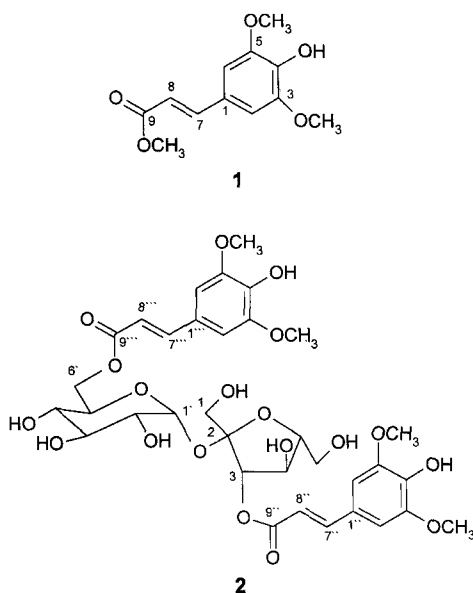


Fig. 1. The structures of compound 1 and 2.

에서 [M-H-OMe]⁻ fragment ion peak을 관찰할 수 있었고, NMR spectrum에서 δ_H 3.77에서 CO₂Me⁷, δ_H 3.87에서 2개의 methoxyl기, δ_C 107.0에서 2개의 singlet signal, 그리고 δ_H 6.39 및 7.60에서 *trans*-olefinic proton signal을 관찰할 수 있어 이 화합물이 sinapoyl 유도체임을 추측할 수 있었다.

HMQC spectrum으로 carbon과 proton을 서로 귀속시킨 다음 ¹H-¹H COSY spectrum에서 δ 7.60의 H-7 signal이 δ 6.39의 H-8 doublet (*J*=15.9 Hz) signal과 coupling하고 있어 각각 *trans* 결합하고 있음을 알 수 있었다.

또한, HMBC spectrum에서는 δ 3.77에서 CO₂Me 기가 C-9와 coupling하고 H-7 (δ 7.60)은 C-2, C-6, C-8 및 C-9와, H-2, 6 (δ 6.39)은 C-1, C-7, C-3, C-5와 coupling하고 H-8 (δ 6.90)은 C-1 및 C-9와 coupling하고 있어 sinapic acid ester임을 알 수 있었다.

이상의 기기분석 결과와 문헌들^{6,7)}을 비교한 결과 Compound 1은 분자식 C₁₂H₁₄O₅인 methyl sinapate로 확인, 동정하였다.

Compound 2의 negative FAB-MS spectrum에서 *m/z* 753에서 [M-H]⁻ molecular ion peak을, *m/z* 547, 385, 341에서 각각 [M-H-sinapoyl moiety]⁻, [M-H-sinapoyl moiety-glc]⁻, [M-H-2×sinapoyl moiety]⁻ fragment ion peak을 관찰할 수 있어서 sinapoyl 유도체임을 추정할 수 있었다.

한편, NMR spectrum에서 δ_H 3.87과 3.85에서 4개의 methoxyl기, δ_C 107.0과 107.2에서 4개의 singlet signal, 그리고 δ_H 6.45, 6.46, 7.59 및 7.67에서 *trans*-olefinic proton signal을 관찰할 수 있었고 δ 5.52에서 α-anomeric proton (*J*=3.9 Hz)과 α-glucopyranosyl (1→2')fructofuranoside 분자들의 특징적인 peak을 관찰할 수 있어 이 화합물이 2개의 sinapoyl 기에 당이 2개 결합되어 있음을 추측할 수 있었다.

HMQC spectrum으로 carbon과 proton을 서로 귀속시킨 다음 ¹H-¹H COSY spectrum에서 δ 7.67의 H-7" signal이 δ 6.45의 H-8" doublet (*J*=15.9 Hz) signal과 coupling하고 δ 7.59의 H-7'" signal이 δ 6.46의 H-8'" doublet (*J*=15.9 Hz) signal과 coupling하고 있어 각각 *trans* 결합하고 있음을 알 수 있었다.

또한, HMBC spectrum에서는 H-3 (δ 5.50)이 C-2 (δ 104.9) 및 C-9 (δ 168.2)와 long-range coupling하고 있어 fructofuranosyl기의 C-3에 sinapoyl기가 결합된 것을 알 수 있었고 H_a-6' (δ 4.68)가 C-9"

Table I. ^1H - and ^{13}C -NMR data for compound **2** (500 and 125 MHz in CD_3OD)

Carbon No.	δC	δH	HMBC
1	65.8	3.61	C-2, C-3
2	104.9	-	-
3	79.4	5.50 (d, $J = 8.0$ Hz)	C-1, C-2, C-4, C-9"
4	74.2	4.50 (t, $J = 8.1$ Hz)	C-3, C-6
5	84.4	3.96 - 3.98	C-4
6	63.8	3.83 - 3.86	C-4
1'	92.7	5.52 (d, $J = 3.9$ Hz)	C-5'
2'	73.1	3.48 (dd, $J = 3.8, 9.8$ Hz)	C-3'
3'	75.1	3.67 (t, $J = 9.3$ Hz)	C-4', C-5'
4'	72.0	3.30	C-2'
5'	72.5	4.27 (d, $J = 9.1$ Hz)	C-9'''
H _a -6'	65.6	4.68 (dd, $J = 1.5, 11.7$ Hz)	C-9'''
H _b -6'		4.21 (dd, $J = 7.2, 11.6$ Hz)	C-5'
1"	126.6	-	-
2", 6"	107.2	6.93 (s)	C-1", C-4", C-7"
3", 5"	149.4	-	-
4"	139.7	-	-
7"	147.9	7.67 (d, $J = 15.9$ Hz)	C-1", C-2", C-6", C-8", C-9"
8"	115.5	6.45 (d, $J = 15.9$ Hz)	C-1", C-9"
9"	168.2	-	-
3", 5" -OMe	56.9	3.87 (s)	C-3", C-5"
1'''	126.6	-	-
2"', 6'''	107.0	6.89 (s)	C-1''', C-4''', C-7'''
3''', 5'''	148.6	-	-
4'''	139.6	-	-
7'''	147.3	7.59 (d, $J = 15.9$ Hz)	C-1''', C-2''', C-6'', C-8''', C-9'''
8'''	115.9	6.46 (d, $J = 15.9$ Hz)	C-1''', C-9'''
9'''	169.1	-	-
3''', 5''' -OMe	56.9	3.85 (s)	C-3'', C-5'''

($\delta 169.1$)와 coupling하고 있어 glucose의 C-6'에 두번째 sinapoyl group이 ester화 된 것을 관찰할 수 있었다(Table I).

이상의 기기분석 결과와 문헌들⁸⁻¹⁰⁾을 비교한 결과 Compound **2**는 분자식 $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{19}$ 인 $\beta\text{-D-(3-O-sinapoyl)fructofuranosyl-}\alpha\text{-D-(6-O-sinapoyl)glucopyranoside}$ 로 확인, 동정하였다.

결 론

내복자를 MeOH로 추출한 후 MeOH의 용량을 증가시키면서 Amberlite XAD-4를 이용한 column chromatography를 실시하여 40% MeOH 분획에서 2종의 sinapic acid esters를 분리하였다.

Compound **1**은 methyl sinapate로 Raphanus속에서 처음 분리되었고, compound **2**는 $\beta\text{-D-(3-O-sinapoyl)fructofuranosyl-}\alpha\text{-D-(6-O-sinapoyl)glucopyranoside}$ 로 이 화합물의 HMBC full data는 처음으로 보고된다.

사 사

본 연구는 농림부의 지원으로 수행된 농림기술특정 연구사업 (296051-3)연구 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 李昌福 (1980) 大韓植物圖鑑, 386. 鄉文社.

2. 陸昌洙 (1993) 原色韓國藥用植物圖鑑, 246. 아카데미서적.
3. 金昌玟, 辛民教, 李京淳, 安德均 (1998) 中藥大辭典, 932-935. 鼎談.
4. Schmidt, J., Yokota, T., Spengler, B. and Adam, G. (1993) 28-Homoteasterone, a naturally occurring brassinosteroid from seeds of *Raphanus sativus*. *Phytochemistry* 34(2): 391-392.
5. Jeon, W. K., Kim, H. K. and Ko, B. S. (2000) Study on the anti-influenza virus A type activity of *Citrus junos*. *Kor. J. Pharmacogn.* 31(1): 82-86.
6. Fujita, M., Yamada, M., Nakajima, S., Kawai, K. I. and Nagai, M. (1984) O-methylation effect on the carbon-13 nuclear magnetic resonance signals of ortho-disubstituted phenols and its application to structure determination of new phthalides from *Aspergillus silvaticus*. *Chem. Pharm. Bull.* 32(7): 2622-2627.
7. Itoh, A., Tanahashi, T. and Nagakura N. (1992) 6'-O-feruloyl-and 6'-O-sinapoyl-demethylalansides, tetrahydroisoquinoline-monoterpene glucosides from *Alangium platanifolium*. *Phytochemistry* 31(3): 1037-1040.
8. Ikeya, Y., Sugama, K., Okada, M. and Mitsuhashi, H. (1991) Four new phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia*. *Chem. Pharm. Bull.* 39(10): 2600-2605.
9. Bashir, A., Hamburger, M., Msonthi, J. D. and Hostettmann, K. (1993) Sinapic acid esters from *Polygala virgata*. *Phytochemistry* 32(3): 741-745.
10. Tommasi, N., Piacente, S., Simone, F. and Pizza C. (1993) New sucrose derivatives from the bark of *Securidaca longipedunculata*. *Journal of Natural Products* 56(1): 134-137.

(2000년 10월 28일 접수)