

애기땅빈대의 화학적 성분

안인파¹ · 권지웅² · 권태오² · 정완태³ · 이해숙 · 김윤철*

원광대학교 약학대학, ¹연변대학교 약학원, ²원광대학교 생명자원대학, ³농촌진흥청 축산연구소

Chemical constituents from the whole plants of *Euphorbia supina* Rafin

Ren-Bo An¹, Ji-Wung Kwon², Tae-Oh Kwon², Wan-Tae Chung³, Hye-Suk Lee, and Youn-Chul Kim*

College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

¹College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji, Jilin 133000, China

²College of Life Sciences and Natural Resources, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

³Nutrition Physiology Division, National Livestock Research Institute Rural Development Administration, Suwon, 441-350, Korea

Abstract – Eight compounds were isolated from the whole plants of *Euphorbia supina* (Euphorbiaceae) through repeated silica gel, YMC gel and Sephadex LH-20 column chromatography. Their chemical structures were elucidated as 7-hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin) (1), *p*-hydroxybenzaldehyde (2), methyl gallate (3), gallic acid (4), quercetin (5), quercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (avicularin) (6), kaempferol 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (juglanin) (7) and kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (astragaline) (8) by spectroscopic (NMR and MS) analysis.

Key words – *Euphorbia supina*, Euphorbiaceae, 7-hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin), *p*-hydroxybenzaldehyde, kaempferol 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (juglanin)

애기땅빈대(*Euphorbia supina* Rafin)는 발이나 들에서 자라는 대극과(Euphorbiaceae)에 속하는 일년생 초본으로 원줄기는 지면을 따라 퍼지며 길이 10-25 cm 이고, 잎과 더불어 털이 다소 있고, 중앙부에는 붉은빛이 도는 갈색 반점이 있으며 백색의 유액이 함유되어 있다. 민간에서는 지금초(地錦草)라고도 하며 향균, 향기생충, 해독, 지혈 등으로 이용되고 있다.^{1,2)} *E. supina*에 대한 성분연구는 triterpenoid derivatives,³⁻¹¹⁾ monoterpene lactone,¹²⁾ tannins, flavonoids, phenol¹³⁻¹⁵⁾ 등으로 보고되어져 있고 생물활성으로는 *in vitro*에서 항암활성이 알려져 있다.⁵⁾

본 연구자들은 우리나라에 흔히 자생하는 애기땅빈대의 생리활성물질 발견을 위한 기초연구의 일환으로 일차적으로 이 식물의 성분분리를 수행하고자, 애기땅빈대 전초를 methanol로 추출하여 각종 column chromatography를 반복 실시하여 8종의 화합물을 분리하고, 이화학적 성상 및 기기 분석적 방법으로 구조를 동정하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 애기땅빈대 전초는 2005년 7월 전라북도 익산시에서 채집하여 감정한 후 사용하였으며, 시료의 일부는 표준품(WK05-529)으로 원광대학교 약학대학 표본실에 보관하고 있다.

시약 및 기기 – Column chromatography용 담체는 Kiesel gel 60(70 ~ 230 mesh, Merck, No. 7734), YMC-GEL ODS-A(S-75 μ m, YMC Kyoto, Japan)과 Sephadex LH-20 (Pharmacia, Uppsala, Sweden)을, thin layer chromatography는 precoated Kiesel gel 60 F₂₅₄(Merck, No. 5735) 및 RP-18 F254S(0.25 mm, Merck)를 각각 사용하였다. NMR spectrum은 JEOL JNM-ECP 500(¹H, 500 MHz; ¹³C, 125 MHz)을, ESI-MS는 API-2000 spectrometer를 사용하여 측정하였다.

추출 및 정제 – 건조된 애기땅빈대 전초(0.8 kg)를 MeOH (11×2회)로 2시간 동안 가열추출하고 여액을 감압 농축하여 MeOH 추출물(117.1 g)을 얻었다. 이 추출물을 증류수 (500 ml)에 현탁하고 *n*-hexane, CHCl₃, EtOAc, *n*-BuOH 순으로 극성에 따라 분획하였다. CHCl₃ 가용부(1.2 g)를 silica

*교신저자 (E-mail): yckim@wku.ac.kr
(FAX): 063-852-8837

gel column chromatography(CC)에 의하여 CH_2Cl_2 -MeOH (40:1 → 20:1 → 8:1)을 용출용매로 분획(Fr. 1~6)으로 나누었다. Fr. 1(157.0 mg)을 MeOH- H_2O (40% → 50%)을 용출용매로 하는 YMC gel CC로 정제하여 화합물 **1**(6.0 mg)을 분리하였다. EtOAc 가용부(29.4 g)를 silica gel CC에 의하여 CH_2Cl_2 -MeOH(8:1 → 4:1)을 용출용매로 분획 (Fr. 1~7)으로 나누었다. Fr. 2(100.0 mg)를 다시 MeOH- H_2O (40% → 50% → 60%)혼합용매를 용출용매로 하는 YMC gel CC에 의하여 7개의 소분획(Fr. 21~27)으로 나누었다. Fr. 23(30.0 mg)은 MeOH- H_2O (30%)을 용출용매로 하는 YMC gel CC로 정제하여 화합물 **2**(2.3 mg)를 얻었다. Fr. 3(457.0 mg)을 MeOH- H_2O (30% → 50% → 70%) 혼합용매를 용출용매로 하는 YMC gel CC에 의하여 화합물 **3**(200.0 mg)과 **5**(11.7 mg)를 얻었다. Fr. 4(273.0 mg)는 CH_2Cl_2 -MeOH(12:1)을 용출용매로 하는 silica gel CC로 정제하여 화합물 **7**(47.1 mg)을 분리하였다. Fr. 5(1.3 g)를 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (9:1:0.1 → 6:1:0.1 → 4:1:0.1)을 용출용매로 한 silica gel CC를 통하여 5개의 소분획(Fr. 51~55)을 얻었다. 이 중 Fr. 54(117.0 mg)를 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (6:1:0.1)을 용출용매로 하는 Sephadex LH-20 CC로 정제하여 화합물 **6**(47.8 mg)을 얻었다. Fr. 6(1.2 g)은 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (8:1:0.1 → 6:1:0.1 → 3:1:0.1)을 용출용매로 한 Sephadex LH-20 CC를 통하여 5개의 소분획(Fr. 61~65)으로 나누었으며, Fr. 62(184.0 mg)를 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (8:1:0.1)을 용출용매로 하는 silica gel CC로 정제하여 화합물 **8**(116.0 mg)을 분리하였다. Fr. 65(580.0 mg)는 CH_2Cl_2 -MeOH- H_2O (5:1:0.1 → 3:1:0.1)을 용출용매로 하는 silica gel CC로 분획하여 5개의 소분획 (Fr. 651~655)으로 하였다. Fr. 653(70.0 mg)은 다시 MeOH- H_2O (30%)을 용출용매로 하는 YMC gel CC로 정제하여 화합물 **4**(42.6 mg)를 얻었다.

7-Hydroxy-6-methoxycoumarin (Scopoletin) (1) – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 191 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.85 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-4), 7.15 (1H, s, H-5), 6.77 (1H, s, H-8), 6.15 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-3), 3.85 (3H, s, OMe); ¹³C-NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ : 161.3 (C-2), 109.3 (C-3), 144.4 (C-4), 111.1 (C-4a), 112.0 (C-5), 150.2 (C-6), 145.6 (C-7), 102.8 (C-8), 151.4 (C-8a), 55.9 (C-9, OCH₃).

***p*-Hydroxybenzaldehyde (2)** – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 121 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.76 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2, 6), 6.97 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ : 129.3 (C-1), 132.1 (C-2, 6), 115.8 (C-3, 5), 163.5 (C-4), 190.6 (C=O).

Methyl gallate (3) – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 183 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.10

Table I. ¹³C-NMR data of compounds **5-8**

No.	5	6	7	8
2	146.1	157.2	157.1	157.1
3	135.9	133.7	133.8	134.3
4	175.7	179.0	178.5	178.2
5	161.5	162.2	161.4	161.5
6	98.3	98.8	99.0	98.9
7	164.1	164.4	164.7	164.7
8	93.6	93.8	94.1	94.0
9	157.0	157.2	158.0	157.8
10	103.3	104.6	104.4	104.4
1'	123.0	122.0	121.4	121.3
2'	114.9	115.8	131.0	131.3
3'	145.0	145.0	115.6	115.2
4'	147.5	148.4	160.1	160.4
5'	115.4	115.6	115.6	115.2
6'	120.6	121.7	131.0	131.3
1"		108.3	108.5	103.2
2"		81.5	81.9	74.4
3"		78.1	77.1	76.6
4"		88.6	86.8	69.8
5"		61.9	60.9	76.9
6"				61.3

(2H, s, H-2, 6), 3.77 (3H, s, OMe); ¹³C-NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ : 121.0 (C-1), 109.0 (C-2, 6), 145.2 (C-3, 5), 137.9 (C-4), 166.4 (C=O), 51.1 (OCH₃).

Gallic acid (4) – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 169 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.91 (2H, s, H-2, 6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 121.2 (C-1), 109.3 (C-2, 6), 146.0 (C-3, 5), 138.5 (C-4), 168.1 (C=O).

Quercetin (5) – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 301 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.82 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-2'), 7.69 (1H, dd, $J=8.6, 2.3$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5'), 6.51 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, Acetone- d_6): see Table I.

Quercetin 3-O- α -L-arabinofuranoside (Avicularin) (6) – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 433 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.72 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, $J=8.4, 1.8$ Hz, H-6'), 6.99 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.50 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-8), 6.27 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-6), 5.48 (1H, brs, H-1"), 4.29 (1H, brs, H-5"), 3.59-4.10 (m, sugar-H); ¹³C-NMR (125 MHz, Acetone- d_6): see Table I.

Kaempferol 3-O- α -L-arabinofuranoside (Juglanin) (7) – Amorphous powder; (-)-ESI-MS: m/z 417 [M-H]⁻; ¹H-NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.95 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, d,

교한 결과¹⁹⁾ methyl gallate로 동정하였다.

화합물 4는 백색분말로서 (-)-ESI-MS spectrum의 m/z 169 [M-H]⁻에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum으로부터 관찰하면 화합물 3과 유사하나 methoxy group에 기인하는 proton을 관찰할 수 없었다. ¹³C-NMR data와 문헌 문헌에 보고된 data와 비교한 결과²⁰⁾ gallic acid로 동정하였다.

화합물 5는 황색분말로서 (-)-ESI-MS spectrum의 m/z 301 [M-H]⁻에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 7.82 (1H, d, $J=2.3$ Hz), δ 7.69 (1H, dd, $J=8.6, 2.3$ Hz), δ 6.98 (1H, d, $J=8.6$ Hz)의 proton은 각각 flavonoid의 3'와 4'위치가 치환된 B-ring의 2', 6'와 5'의 proton으로 추정하였으며, δ 6.51 (1H, d, $J=1.4$ Hz)와 δ 6.25 (1H, d, $J=1.4$ Hz)의 proton signal은 5, 7-dioxygenated flavonoid A ring의 8번과 6번 위치의 proton으로 추정하였다. ¹³C-NMR spectrum에서는 15개 탄소의 chemical shift를 문헌에 보고된 data와 비교한 결과²¹⁾ quercetin로 동정하였다.

화합물 6는 황색분말로서 (-)-ESI-MS spectrum의 m/z 433 [M-H]⁻가 나타나고 당에 해당하는 부분만 빼고서는 화합물 5과 기본 일치하였다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 7.82 (1H, d, $J=2.3$ Hz), δ 5.48에서 anomeric proton이 broad 한 single signal로 나타나는 것으로 보아 1개의 당이 α 위로 결합하고 있음을 알 수 있었으며 ¹³C-NMR spectrum에서는 δ 108.3에서 anomeric carbon, δ 81.5, 78.1, 88.6, 61.9에서 각각 나타나는 것으로 보아 결합된 당은 arabinose임을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하고 문헌에 보고된 data와 비교한 결과²²⁾ quercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (avicularin)로 동정하였다.

화합물 7는 황색분말로서 (-)-ESI-MS spectrum의 m/z 417 [M-H]⁻에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 7.95 (2H, d, $J=8.4$ Hz) 및 6.94 (2H, d, $J=8.4$ Hz)의 proton signal이 doublet으로 서로 coupling 하고 있으며, δ 6.44 (1H, d, $J=1.4$ Hz)과 6.21 (1H, d, $J=1.4$ Hz)에서는 *meta*-coupling하는 proton signal이 관찰되었으며 이는 kaempferol moiety로 추정할 수 있다. 또한 δ 5.42 (1H, brs)에서 anomeric proton 및 δ 3.40-4.30 부근에서 당의 기타 proton signals를 관찰하였다. Anomeric proton이 broad 한 single signal로 나타나므로 1개의 당이 α 위로 결합하고 있음을 알 수 있었으며 ¹³C-NMR spectrum에서는 20개 탄소의 chemical shift를 문헌에 보고된 data와 비교한 결과²³⁾ kaempferol 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (Juglanin)로 동정하였다.

화합물 8는 황색분말로서 (-)-ESI-MS spectrum의 m/z 447 [M-H]⁻에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 보면 화합물 7과 유사하나 anomeric

proton이 δ 5.21에서 $J=7.8$ Hz의 doublet으로 나타나므로 β 위임을 알 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 δ 103.2에서 anomeric carbon의 signal과 δ 74.4, 76.6, 69.8, 76.9, 61.3 등에서 나타나는 signal들로부터 결합된 당은 glucose임을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하고 문헌에 보고된 data와 비교한 결과²⁴⁾ kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (Astragaline)으로 동정하였다.

애기땅빈대 전초로부터 8종의 성분을 분리하여 구조를 확인 동정하였으며, 이들 성분 중 화합물 1, 2, 7은 이 식물에서 처음으로 분리 보고된 화합물이다.

결 론

유용 천연화합물의 탐색목적으로 애기땅빈대 전초의 MeOH 추출물을 각종 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 8종의 화합물을 분리하였다. ¹H-NMR, ¹³C-NMR, MS등 분광학적 방법으로 그 구조를 결정한 결과 이들 화합물의 구조는 7-hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin) (1), *p*-hydroxybenzaldehyde (2), methyl gallate (3), gallic acid (4), quercetin (5), quercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (avicularin) (6), kaempferol 3-*O*- α -L-arabinofuranoside (juglanin) (7), kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (astragaline) (8)로 동정하였다.

사 사

본 연구는 한국학술진흥재단 중점연구소 지원 연구비 (J03203)에 의해 이루어 졌으며 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

1. 국가중의약관리국 《중화본초》 편위원회 (1999) 중화본초(전집), 4, 789-792. 상해과학기술출판사, 상해.
2. 이창복 (1989) 대한식물도감, 511. 향문사, 서울.
3. Tanaka, R. and Matsunaga, S. (1991) Fernane and multiflorane triterpene ketols from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* 30: 4093-4097.
4. Tanaka, R. and Matsunaga, S. (1991) Fernane and unusually migrated fernane triterpene-triones from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* 30: 293-296.
5. Tanaka, R., Kurimoto, M., Yoneda, M. and Matsunaga, S. (1990) 17 β ,21 β -Epoxyhopan-3 β -ol and β -alnincanol from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* 29: 2253-2256.
6. Tanaka, R. and Matsunaga, S. (1989) Supinenolones A, B and C, fernane-type triterpenoids from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* 28: 3149-3154.
7. Tanaka, R., Matsunaga, S., Ishida, T. and Shingu, T. (1989) Four novel 3,4-*seco*-triterpenoids, espinendiols A and B,

- espinenoxide, and trisnor-isoespinenoxide from *Euphorbia supina*. *Tetrahedron Lett.* **30**: 1661-1664.
8. Tanaka, R. and Matsunaga, S. (1988) Triterpene constituents from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* **27**: 3579-3584.
 9. Tanaka, R., Matsuda, M. and Matsunaga, S. (1987) 3 β - Hydroxyhexanordammaran-20-one from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* **26**: 3365-3366.
 10. Chung, B. S. and Kim, H. G. (1985) Studies on the terpenoid constituents of *Euphorbia supina* Rafin. *Kor. J. Pharmacogn.* **16**: 155-159.
 11. Matsunaga, S. and Morita, R. (1983) Hopanol-B, a triterpene alcohol from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* **22**: 605-606
 12. Tanaka, R. and Matsunaga, S. (1989) Loliolide and olean-12-en-3 β , 9 α , 11 α -triol from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* **28**: 1699-1702.
 13. Agata, I., Hatano, T., Nakaya, Y., Sugaya, T., Nishibe, S., Yoshida, T. and Okuda, T. (1991) Tannins and related polyphenols of Euphorbiaceous plants. VIII. Eumaculin A and eusupinin A, and accompanying polyphenols from *Euphorbia maculata* L. and *E. supina* Rafin. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 881-883.
 14. Lee, S. H., Tanaka, T., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1991) Tannins and related compounds. CV. Monomeric and dimeric hydrolyzable tannins having a dehydrohexahydroxydiphenyl group, supinanin, euphorscopin, euphorhelin and jolkianin, from *Euphorbia* species. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 630-638.
 15. Fang, Z., Zeng, X., Zhang, Y. and Zhou, G. (1993) Chemical constituents of spotted leaf euphorbia (*Euphorbia supina*). *Zhongcaoyao* **24**: 230-233.
 16. Chang, B. S., Kwon, Y. S. and Kim, C. M. (2004) The chemical structures and their antioxidant activity of the components isolated from the heartwood of *Hemiptelea davidii*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 80-87.
 17. Nam, J. H., Choi, S. Z. and Lee, K. R. (2004) Phytochemical constituents of *Synurus excelsus*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 116-121.
 18. Jang, D. S., Han, A.-R., Park, G., Jhon, G.-J. and Seo, E.-K. (2004) Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 386-389.
 19. Redwane, A., Lazrek, H. B., Bouallam, S., Markouk, M., Amarouch, H. and Jana, M. (2002) Larvicidal activity of extracts from *Quercus lusitania* var. *infectoria* galls (Oliv.). *J. Ethnopharmacol.* **79**: 261-263.
 20. Lee, S. H., Tanaka, T., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1990) Tannins and related compounds. XCV. Isolation and characterization of helioscopinins and helioscopins, four new hydrolyzable tannins from *Euphorbia helioscopia* L. (1). *Chem. Pharm. Bull.* **38**: 1518-1523.
 21. Shen, C. C., Chang, Y. S. and Ho, L. K. (1993) Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids. *Phytochemistry* **34**: 843-845.
 22. Zhang, X. F., Thuong, P. T., Jin, W. Y., Su, N. D., Sok, D. E., Bae, K. H. and Kang, S. S. (2005) Antioxidant activity of anthraquinones and flavonoids from flower of *Reynoutria sachalinensis*. *Arch. Pharm. Res.* **28**: 22-27.
 23. Jung, H. A., Kim, A. R., Chung, H. Y. and Choi, J. S. (2002) *In vitro* antioxidant activity of some selected *Prunus* species in Korea. *Arch. Pharm. Res.* **25**: 865-872.
 24. Jung, H. A., Kim, J. E., Chung, H. Y. and Choi, J. S. (2003) Antioxidant principles of *Nelumbo nucifera* stamens. *Arch. Pharm. Res.* **26**: 279-285.

(2007년 8월 16일 접수)