

노각나무 가지의 Dihydrochalcone 성분

안달래 · 이사임¹ · 양재현 · 임종필 · 전 훈 · 은재순 · 김학용² · 이재혁³ · 박정숙⁴ · 김대근*

우석대학교 약학대학, ¹경희대학교 약학대학, ²전북대학교 공과대학,
³남부대학교 한방제약개발학과, ⁴남부대학교 대체의학과

Dihydrochalcone Components from the Twigs of *Stewartia koreana*

Dalrae Ahn, Sa Im Lee¹, Jae Heon Yang, Hak Yong Kim², Jae Hyeok Lee³,
Jeong-Suk Park⁴ and Dae Keun Kim*

College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

¹College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 131-701, Korea

²College of Engineering, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

³Dept. of Oriental Pharmaceutical Development, Nambu University, Gwangju 506-706, Korea

⁴Dept. of Complementary and Alternative Medicine, Nambu University, Gwangju 506-706, Korea

Abstract – Three dihydrochalcone compounds were isolated from the twigs of *Stewartia koreana* (Theaceae) through repeated column chromatography. Their chemical structures were elucidated as phloridizin, 2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxydihydrochalcone and confusoside, respectively, by spectroscopic analysis. These compounds were isolated for the first time from this plant.

Key words – *Stewartia koreana*, dihydrochalcone, phloridizin, 2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxydihydrochalcone, confusoside

노각나무 *Stewartia koreana* 는 차나무과 (Theaceae)에 속하는 높이 7-15 m에 달하는 낙엽교목으로 지리산 지역에서 자란다. 잎은 호생하며 타원형이고 길이 4-10 cm, 나비 2-5 cm까지 자란다. 꽃은 양성으로 6-7월에 백색으로 피며, 열매는 10월에 익는다.^{1,2)} 본 식물에 대해 추출물에 대하여 cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase gene expression, osteoclast differentiation 및 bone resorption 저해 효과^{3,4)}와 human endothelial cell에 대해 proliferation과 migration 촉진하는 효능⁵⁾ 등 몇 가지 약리활성에 대한 연구가 보고되어 있으나, 식물화학적 연구나 성분에 대한 약리학적 연구가 없어 저자 등이 항산화 작용이 있는 6종의 화합물을 분리하여 보고⁶⁾하였다. 본 연구는 전 연구에 대한 지속적인 식물화학적 기초연구로 진행하여 ethyl acetate 분획에서 몇 가지 column chromatography를 실시하여 3종의 dihydrochalcone 화합물을 분리하였으며, 이들 화합물의 spectral data로부터 그 구조를 확인·동정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 노각나무는 2006년 10월에 전북 완주군에서 채취하였으며, 정확히 감정한 후에 음건세 절하여 실험에 사용하였다(WSU-06-008).

시약 및 기기 – 실험에 사용한 기기로 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 Jeol JMN-EX 400 spectrometer (Japan)를 이용하였다. 추출 및 분획용 시약은 1급 용매를 사용하였으며, TLC 및 column용 시약 등은 1급 용매를 재증류하여 사용하거나, 특급시약을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Art. 1.07734, 230-400 mesh, Merck)이며, molecular sieve column chromatography용 packing material은 Sephadex LH-20 (Pharmacia)을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (Art. 1.07752, Merck), low pressure liquid chromatography (LPLC)용 column은 Lobar-A Lichroprep Si 60 (Merck) column을 사용하였다. 발색시약으로는 10% H₂SO₄ (in EtOH) 시약을 사용하였으며, UV의 검색은 254, 365 nm에서 하였다.

추출 및 분리 – 신선한 노각나무 가지를 음건 세절한 시료 약 1 kg을 MeOH로 가끔 진탕하면서 5시간씩 50°C에서

*교신저자 (E-mail): dkkim@mail.woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63-290-1574

3회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 MeOH 엑스 약 38 g을 얻었으며, 이 MeOH 엑스에 증류수 500 ml를 가하여 현탁시키고 상법에 따라 동량의 *n*-hexane (3.9 g), methylene chloride (3.7 g), ethyl acetate (9.8 g) 및 *n*-BuOH (10.8 g)의 순으로 용매 분획하였다. 이 중 ethyl acetate 가용분획을 TLC상에서 10% H₂SO₄ 및 FeCl₃ 발색시약과 UV로 검색하면서 silica gel column chromatography 및 Sephadex LH-20을 사용한 molecular sieve column chromatography와 Lobar-A Lichroprep Si 60 column을 사용한 low pressure liquid column chromatography 등을 반복 실시하여 화합물을 단리하였다.

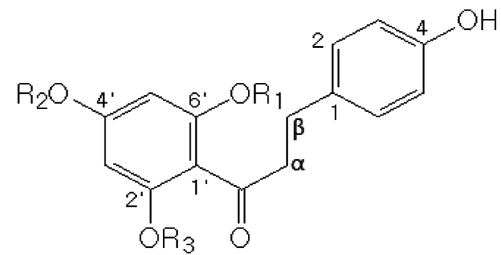
Ethyl acetate 가용분획을 CHCl₃:EtOAc:MeOH (7:2:1)를 유출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 9개의 fraction으로 분획하였다 (E1~E9). 그 중 E7 fraction을 MeOH를 유출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 5개의 subfraction (E71-E75)으로 나누었다. E72 subfraction을 HPLC(ODS column, MeOH)로 정제하여 화합물 1 (16 mg)과 2 (3 mg)를 각각 얻었다. E8 fraction을 MeOH를 유출용매로 Sephadex LH-20 column을 통과시켜 4개의 subfraction (E81-E84)으로 나누었다. E81 subfraction을 HPLC(ODS column, MeOH)로 정제하여 화합물 3 (44 mg)을 얻었다.

화합물 1 - colorless needles, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 6.99 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.67 (2H,

Table I. ¹³C-NMR spectral data of compounds 1-3

C	1	2	3
1	131.9	132.4	134.4
2	130.4	130.4	130.4
3	116.3	116.2	116.1
4	157.0	156.6	156.2
5	116.3	116.2	116.1
6	130.4	130.4	130.4
1'	107.0	106.0	116.1
2'	159.4	164.8	164.7
3'	95.9	92.4	104.2
4'	164.7	166.9	164.8
5'	101.1	97.1	106.3
6'	162.9	168.6	134.6
α	37.2	35.9	38.4
β	33.1	34.8	31.4
1"	101.6		103.4
2"	74.7		75.2
3"	77.8		78.0
4"	71.2		71.3
5"	78.3		77.8
6"	62.4		62.4
C=O	ND	194.3	204.3
OCH ₃		56.1	

Recorded at 100 MHz in CD₃OD



	R ₁	R ₂	R ₃
1	H	H	Glc
2	CH ₃	H	H
3	H	Glc	H

Fig. 1. Structures of compounds 1-3.

d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 6.46 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-3'), 5.99 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-5'), 5.03 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1"), 2.91 (2H, m, β-CH₂), 2.88 (2H, m, α-CH₂), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I.

화합물 2 - colorless needles, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.02 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.69 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 5.93 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-5'), 5.88 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-3'), 3.78 (3H, s, OCH₃), 2.71 (2H, m, β-CH₂), 2.52 (2H, m, α-CH₂), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I.

화합물 3 - colorless needles, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 6.97 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.62 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 5.88 (2H, d, *J* = 1.9 Hz, H-3', 5'), 4.31 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-1"), 2.62 (2H, m, β-CH₂), 2.60 (2H, m, α-CH₂), ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) see Table I.

결과 및 고찰

노각나무 잔가지로부터 얻은 MeOH 엑스를 통상적인 방법으로 분획하여 *n*-hexane, methylene chloride, ethyl acetate 및 *n*-butanol 엑스를 제조하였다. 이 중 ethyl acetate 분획물을 silica gel과 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 실시하여 3종의 페놀성 성분을 단리하였다.

화합물 1은 FeCl₃ 시액에 양성으로 페놀성 화합물임을 알 수 있었으며, ¹H-NMR spectrum에서 aromatic 영역에서 δ 6.99와 6.67에서 *ortho* coupling (*J* = 8.4 Hz)하는 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 6.46과 5.99에서는 *meta* coupling (*J* = 1.9 Hz)하는 각각 1H에 해당하는 signal이 관찰되었다. δ 2.91과 2.88에서는 multiplet의 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 5.03 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1")에서 anomeric proton으로

추정되는 1H의 signal이 확인되었다. 이상의 양상으로 보아 화합물 1은 1개의 당을 가지고 있는 dihydrochalcone 화합물로 추정되었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 aromatic 영역에서 2개의 방향족 고리로 추정되는 12개의 carbon peak와 aliphatic 영역에서 2개의 signal (δ 37.2, 33.1)과 1개의 anomeric carbon signal (δ 101.6) 및 glucose로 귀속되는 추정되는 peak들이 aliphatic 영역에서 관찰되었다. 이상의 결과를 검토한 결과 화합물 1은 phloretin-2'-O- β -D-glucopyranoside인 phloridzin으로 추정하였으며, 기존 문헌⁷⁾의 data와 비교하여 확인·동정하였다.

화합물 2는 FeCl_3 시액에 양성으로 페놀성 화합물임을 알 수 있었으며, $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 화합물 1과 비슷한 양상으로 aromatic 영역에서 δ 7.02와 6.69에서 *ortho* coupling ($J = 8.4$ Hz)하는 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 5.93과 5.88에서는 *meta* coupling ($J = 1.9$ Hz)하는 각각 1H에 해당하는 signal이 관찰되었다. δ 2.71과 2.52에서는 multiplet의 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 3.78에서 methoxy signal이 확인되었다. 이상의 양상으로 보아 화합물 1은 methoxy기 1개를 가지고 있는 dihydrochalcone 화합물로 추정되었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 aromatic 영역에서 2개의 방향족 고리로 추정되는 12개의 carbon peak와 aliphatic 영역에서 2개의 signal (δ 35.9, 34.8)과 1개의 carbonyl carbon signal (δ 194.3) 및 methoxy peak (δ 56.1)가 관찰되었다. 이상의 결과를 검토한 결과 화합물 2는 2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxydihydrochalcone으로 추정하였으며, 기존 문헌^{8,9)}의 data와 비교하여 확인·동정하였다.

화합물 3은 FeCl_3 시액에 양성으로 페놀성 화합물임을 알 수 있었으며, $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 aromatic 영역에서 δ 6.97와 6.62에서 *ortho* coupling ($J = 8.4$ Hz)하는 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 5.88에서는 *meta* coupling ($J = 1.9$ Hz)하는 각각 1H에 해당하는 signal이 겹쳐져 관찰되었다. δ 2.62과 2.60에서는 multiplet의 각각 2H에 해당하는 2개의 proton peak가 확인되었으며, δ 4.31 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1")에서 anomeric proton으로 추정되는 1H의 signal이 확인되었다. 이상의 양상으로 보아 화합물 3도 1개의 당을 가지고 있는 dihydrochalcone 화합물로 추정되었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서는 δ 204.3에서 carbon signal이 확인되었으며, aromatic 영역에서 2개의 방향족 고리로 추정되는 12개의 peak와 aliphatic 영역에서 2개의 signal (δ 38.4, 31.4), 1개의 anomeric carbon signal (δ 103.4) 및 glucose로 귀속되는 추정되는 peak들이 aliphatic 영역에서 관찰되었다. 이상의 결과를 검토한 결과와 기존 문헌¹⁰⁾의 data와 비교한 결과 화합물 3은 phloretin-4'-O- β -D-glucopyranoside인 confusoside으로 확인·동정하였다. Phloridzin을 포함한 phloretin 유도체에 관련된 연구

는 2000년 이후로 700여편의 연구논문이 발표되었으며, 당뇨, 비만, 항산화 등의 활성과 식품, 음료, 식품첨가물, 의약품 및 화장품 등의 보존제로서의 역할 등 다양한 내용의 논문들이 발표되어 있다.¹¹⁻¹³⁾

결 론

노각나무 가지의 MeOH추출물 중 ethyl acetate분획에서 3종의 dihydrochalcone 화합물을 분리하였으며, 이들의 물리화학적 성상과 spectral data로부터 구조를 확인한 결과 phloridzin (1), 2',4,4'-trihydroxy-6'-methoxydihydrochalcone (2) 및 confusoside (3)로 각각 확인·동정하였다. 이 화합물들은 모두 본 식물로부터 처음 보고되는 화합물이다.

사 사

본 연구는 2011년도 교육인적자원부 지방연구중심대학육성사업 헬스케어기술개발사업단의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Lee, T. B., (1986) *Illustrated flora of Korea*, 542, Hyangmoonsa, Seoul.
2. Lee, W. T. (1996) *Coloured standard illustrations of Korean plant*, 127, Academy, Seoul.
3. Lee, T. H., Kwak, H. B., Kim, Kim H.-H., Lee, Z. H., Chung, D. K., Baek, N.-I. and Kim J. (2007) Methanol extracts of *Stewartia koreana* inhibit cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression by blocking NF- κ B transactivation in LPS-activated RAW 264.7 cells. *Mol. Cells* **23**: 398-404.
4. Park, C. K., Kim, H. J., Kwak, H. B., Lee, T. H., Bang, M. H., Kim, C. M., Lee, Y., Chung, D. K., Baek, N. I., Kim, J., Lee, Z. H. and Kim, H. H. (2007) Inhibitory effects of *Stewartia koreana* on osteoclast differentiation and bone resorption. *Int. Immunopharmacol.* **7**: 1507-1516.
5. Lee, T. H., Lee, G. W., Kim, C. W., Bang, M. H., Baek, N. I., Kim, S. H., Chung, D. K. and Kim, J. (2010) *Stewartia koreana* extract stimulates proliferation and migration of human endothelial cells and induces neovascularization in vivo. *Phytother. Res.* **24**: 20-25.
6. Lee, S. I., Yang, J. H. and Kim, D. K. (2010) Antioxidant flavonoids from the twigs of *Stewartia koreana*. *Biomol. Ther.* **18**: 191-196.
7. Lu, Y. and Foo, Y. (1997) Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chem.* **59**: 187-194.
8. Mizuno, M., Kojima, H., Tanaka, T., Iinuma, M., Kimura, R.,

- Zhi-Da, M and Murata, H. (1987) Phenolic constituents from seeds of *Coptis japonica* var. *dissecta*. *Phytochemistry* **26**: 2071-2074.
9. Seidel, V., Bailleul, F. and Waterman, P. G. (2000) (Rel)-1 β , 2 α -di-(2,4-dihydroxy-6-methoxybenzoyl)-3 β , 4 α -di-(4-methoxyphenyl)-cyclobutane and other flavonoids from the aerial parts of *Goniothalamus gardneri* and *Goniothalamus thwaitesii*. *Phytochemistry* **55**: 439-446.
10. Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. In Agrawal, P. K. and Bansal, M. C., Chalconoids, 402, Elsevier, New York.
11. Gosch, C., Halbwirth, H. and Stich, K. (2010) Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry* **71**: 838-843.
12. Ehrenkranz, J. R. L., Lewis, N. G., Kahn, C. R. and Roth, J. (2005) Phlorizin: a review, *Diabetes Metab. Res. Rev.* **21**: 31-38.
13. Valenta, C., Cladera, J., O'Shea, P. and Hadgraft, J. (2001) Effect of phloretin on the percutaneous absorption of lignocaine across human skin. *J. Pharm. Sci.* **90**: 485-492.
- (2011. 7. 25 접수; 2011. 8. 22 심사; 2011. 8. 24 게재확정)