

## 두릅수피에서 항미생물 활성을 갖는 3,4-Dihydroxycinnamic Acid의 분리

마승진 · 국주희 · 고병섭\* · 박근형  
전남대학교 식품공학과, \*한국한의학연구소

### Isolation of 3,4-Dihydroxycinnamic Acid with Antimicrobial Activity from Bark of *Aralia elata*

Seung-Jin Ma, Ju-Hee Kuk, Byoung-Seob Ko\* and Keun-Hyung Park  
Department of Food Science and Technology, Chonnam National University  
\*Korea Institute of Oriental Medicine

#### Abstract

The methanol extracts of *Aralia elata* bark showed antimicrobial activities against bacteria, yeast and fungi. The active components were successively purified with solvent fractionation, silica gel adsorption column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel partition column chromatography and HPLC. The active substances were separated with HPLC where 1% acetic acid-MeOH (60 : 40, v/v) was used as mobile phase. The isolated active substance ( $t_R$  17.1 min) was identified as *trans*-3,4-dihydroxycinnamic acid by MS,  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$ .

Key words: *Aralia elata* bark, antimicrobial activity, 3,4-dihydroxycinnamic acid

## 서 론

부패 및 병원성 미생물에 의한 피해는 여러 분야에서 직면하고 있는 심각한 문제 중의 하나이다. 현재, 이러한 유해 미생물의 증식을 억제시키는 항균제로 주로 인공합성품이 사용되고 있으나, 경우에 따라 그 안전성이 문제로 제기되고 있다<sup>(1,2)</sup>. 최근 건강에 대한 욕구가 증대됨에 따라 인공합성품의 기피현상 또한 두드러지고 있어 안전성에 문제가 없는 천연의 항미생물 활성물질의 개발이 요구되고 있다<sup>(3)</sup>.

식물은 매우 다양한 유용성분을 함유하고 있으며 이러한 식물자원에서 항미생물 활성물질을 찾으려는 시도가 계속되어 왔다. 우리나라에서도 자생하고 있는 식물을 대상으로 항미생물 활성물질의 탐색 연구<sup>(4,5)</sup>, 식물유래의 항균 활성물질의 이용 연구<sup>(3,6,7)</sup> 등이 수행되었으나 항미생물 활성물질의 구명에 관한 연구는 빈약한 실정이다.

두릅나무(*Aralia elata* S<sub>F</sub>EMANN)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 낙엽관목으로 전국 산지에 자생

하며 민가에서는 4월에 새순을 채취하여 나물로 식용하고, 한방에서는 뿌리, 과실, 수피 등을 당뇨병, 신장병, 급성간염, 류마치스성 관절염, 위암, 위장장애 등에 사용한다<sup>(8,9)</sup>. 두릅나무에 관한 연구는 혈당강화작용, 당뇨병 및 위염, 위궤양의 치료 등의 약리학적 측면에서 주로 수행<sup>(10,12)</sup>되어 왔을 뿐 항미생물 활성물질에 대한 연구는 없는 상태이었다.

이에 우리나라 자생식물에 함유된 항미생물 활성물질을 식품보존제 및 유용항균제로 이용하기 위한 연구의 일환으로 두릅나무 껍질에 항미생물 활성물질의 존재를 확인하고, 활성물질의 분리를 시도한 결과, 극성이 약간 다른 복수의 활성물질이 존재함이 인정되었으며, 보다 극성이 높은 활성물질을 분리하여 이 물질이 3,4-dihydroxybenzoic acid임을 보고한 바 있다<sup>(13)</sup>.

본 연구에서는 보다 극성이 낮은 활성물질의 분리에 성공하고 이 활성물질의 본체 구명을 하였기에 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용된 두릅나무(*Aralia elata* S<sub>F</sub>EMANN)의

Corresponding author: Keun-Hyung Park, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, 300 Yongbong-Dong, Kwangju 500-757, Korea

껍질은 전라남도 장성군 북하면 입암산에서 자라고 있는 2~5년생 두릅나무에서 3월 하순에 채취하여 실온에서 건조한 후 사용하였다.

#### 활성물질의 추출 및 정제

전보<sup>(13)</sup>의 방법에 의해 얻어진 두릅나무껍질의 MeOH추출물을 생물검정법<sup>(14)</sup>(paper disc방법)을 지표로 하여 solvent fractionation, silica gel adsorption chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel partition chromatography, HPLC 등의 기법으로 순차 정제하였다.

#### TLC

정제된 시료를 MeOH로 녹여 TLC plate (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, 20×20 cm, 0.2 mm, Merck)에 spotting하고 *n*-hexane-EtOAc-acetic acid (1:1:0.01, v/v) 용매계로 전개시킨 후 *p*-anisaldehyde를 분무하여 발색시키거나 UV (254 nm)를 이용하여 분리양상을 관찰하였다.

#### HPLC

1% acetic acid-MeOH (60:40, v/v) 용매계로 Delta-PAK C<sub>18</sub> column (1.9×30.0 cm)을 사용하여 분당 9 ml로 용출(Model 510 solvent delivery system, Waters) 분획하였으며, 검출은 UV detector (270 nm, Model 486 tunable absorbance detector, Waters)를 이용하였다.

#### MS

직접주입장치(direct injection port, DIP)가 장착된 Jeol JMS-AX 505 WA mass spectrometer를 사용하여 이온화 EI (70 eV), ion source temperature 200°C의 조건에서 direct probe 방식으로 분석하였다.

#### NMR

Varian Unity Plus-300 (300 MHz <sup>1</sup>H) FT-NMR spectrometer를 사용하여 분석하였고 용매는 CD<sub>3</sub>OD를 사용하였으며 내부표준물질로 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다.

### 결과 및 고찰

#### 활성물질의 분리

두릅나무 껍질의 MeOH추출물에 포함된 향미생물 활성물질을 전보의 방법<sup>(13)</sup>에 따라 순차 정제하여 결정상의 물질 161 mg을 얻었다. 얻어진 결정상 물질은

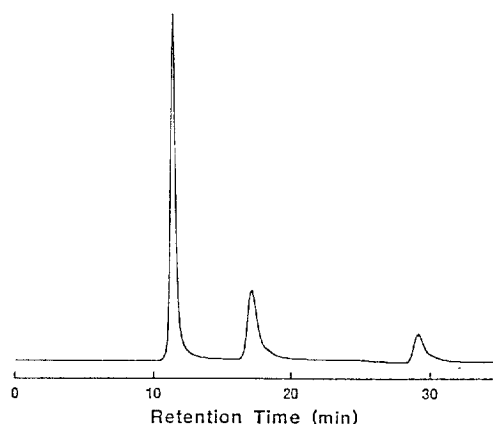


Fig. 1. HPLC chromatogram of active substances from bark of *Aralia elata* Column, Delta-PAK C<sub>18</sub>; mobile phase, 1% AcOH-MeOH (60:40, v/v)

TLC에 의해 main성분(*R<sub>f</sub>* 0.24)과 minor성분(*R<sub>f</sub>* 0.28)이 인정되었으나 명확히 분리되지 않아, 1% acetic acid-MeOH (60:40, v/v) 용매계를 이용한 reverse phase column (Delta-PAK C<sub>18</sub>)의 HPLC를 실시하여 분리를 시도하였다. 그 결과 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 retention time (*t<sub>R</sub>*) 11.4분과 17.1분 그리고 28.2분에 peak를 나타내 완전한 분리(baseline separation)가 이루어졌으며, 이들 세 성분은 향미생물 활성을 나타냈다. 이 중 *t<sub>R</sub>* 11.4분의 peak는 3,4-dihydroxybenzoic acid로 확인되었다<sup>(13)</sup>.

#### 분리된 물질의 구조확인

HPLC에 의해 분리된 *t<sub>R</sub>* 17.1분의 성분을 direct probe방식의 electron impact (EI) mass 분석을 한 결과 Fig. 2과 같이 molecular ion (M<sup>+</sup>)이 m/z 180에 나타났으며, 특징적인 fragment ion이 m/z 163 (M-17), 136 (M-44, base peak), 89 (M-91), 77 (M-103)에 나타났다. 이 spectrum으로 NIST library 검색을 실시한 결과, 3,4-dihydroxycinnamic acid의 가능성(NIST entry No. 14563)이 시사되었다. 또한 이 spectrum은 John Wiley & Sons mass spectral data의 3,4-dihydroxycinnamic acid spectrum (John Wiley & Sons entry No. AD-5039)과 일치하였다.

이어서 NMR 분석을 시도하였다. CD<sub>3</sub>OD를 용매로 사용하여 <sup>1</sup>H-NMR을 실시한 결과, δ 6.20 (1H, d, J=15.7 Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, J=8.2 Hz, H-6), 6.93 (1H, d, J=8.2 Hz, H-5), 7.03 (1H, s, H-2), 7.53 (1H, d, J=15.7 Hz, H-1)에서 proton이 관찰되어 3개의 benzene ring proton (δ 6.77, 6.93, 7.03)과 2개의 ole-

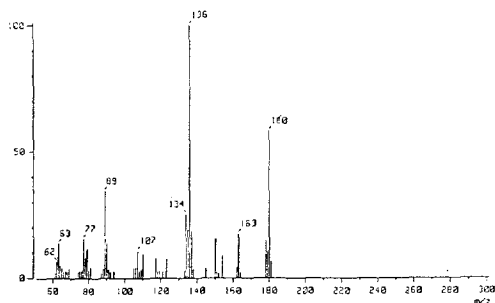


Fig. 2. Direct-EI-mass spectrum of the active substance ( $t_R$  17.1 min) from bark of *Aralia elata*

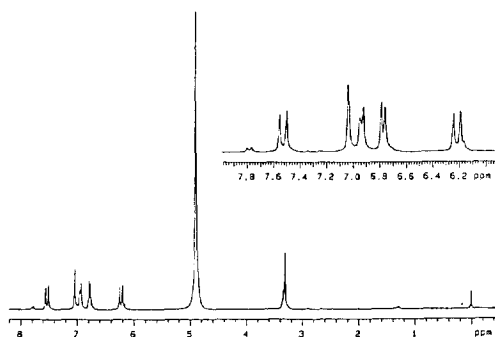


Fig. 3.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of the active substance ( $t_R$  17.1 min) from bark of *Aralia elata*

finic proton ( $\delta$  6.20, 7.53)이 인정되었다. 또한,  $\delta$  6.20 및 7.53에서 관찰되는 olefinic signal의 coupling constant가 15.7 Hz인 사실에서 trans형임을 확인하였다 (Fig. 3).

한편,  $^{13}\text{C-NMR}$ 을 실시한 결과(Fig. 4),  $\delta$  171.04 (C-3'), 149.45 (C-4), 146.99 (C-2'), 146.80 (C-3), 127.80 (C-1), 122.83 (C-1'), 116.47 (C-5), 115.58 (C-6), 115.06 (C-2)의 위치에서 carbon의 존재를 확인하였다. 그리고 이들 spectra는 Aldrich library spectra의 3,4-dihydroxycinnamic acid (2, 1058 B)와 일치하였다.

이상의 MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ 의 분석에서 얻어진 결과에서, 두릅나무 껍질로부터 분리된 향미생물 활성물질은 trans-3,4-dihydroxycinnamic acid로 동정되었다.

3,4-dihydroxycinnamic acid가 두릅에서 향미생물 활성물질로 분리, 동정된 것은 본 연구가 처음으로 생각된다. 현재 미 동정된 활성분체 구멍과 분리된 활성물질의 광범위한 향미생물 활성 검색 그리고 두릅 부위별 이들 활성물질의 함량에 관한 연구가 진행되고 있으며, 두릅의 향미생물 활성물질에 관한 일련의 연구가 수행되면 두릅의 약리 및 기능성 해명에 크게 도움

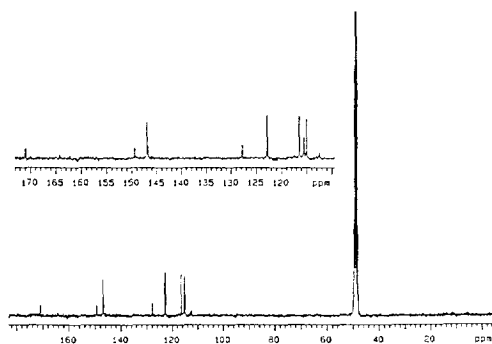


Fig. 4.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum of the active substance ( $t_R$  17.1 min) from bark of *Aralia elata*

되리라 기대된다.

## 요 약

두릅나무(*Aralia elata* SEEMANN) 껍질의 MeOH추출물이 세균과 효모, 곰팡이 등에 대한 항미생물 활성을 보여 solvent fractionation, silica gel adsorption chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel partition chromatography, HPLC 등의 기법으로 활성물질을 순차 정제하여 얻어진 활성물질을 1% acetic acid-MeOH (60 : 40, v/v) 용매계의 HPLC에 의해 분리하였다. 분리된 성분( $t_R$  17.1분)의 활성분체를 구명하기 위하여 MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  등을 이용하여 기기분석한 결과, trans-3,4-dihydroxycinnamic acid로 동정되었다. 3,4-dihydroxycinnamic acid가 두릅에서 향미생물 활성물질로서 분리, 동정된 것은 처음으로 생각된다.

## 감사의 말

본 연구는 농업생물신소재연구센터의 지원으로 수행된 연구결과의 일부이며 이에 연구센터와 과학재단 당국에 감사드립니다.

## 문 헌

1. 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이응호 : 수산 미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 26, 261 (1994)
2. 신동화 : 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업, 23, 68 (1990)
3. 김선재, 박근형 : 식물성 김치재료 추출물의 향미생물 효과. 한국식품과학회지, 27, 216 (1995)
4. 한지숙, 신동화, 윤세억, 김분숙 : *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식용 가능한 식물 추출물의 검색. 한국식품과학회지, 26, 545 (1994)

5. 양민석, 하영래, 남상해, 최상욱, 장대식 : 국내 자생식물의 항균활성. 한국농화학회지, **38**, 584 (1995)
6. 문광덕, 변정아, 김석중, 한대석 : 김치의 선도유지를 위한 천연보존제의 탐색. 한국식품과학회지, **27**, 257 (1995)
7. 정대균, 유리나 : 김치발효미생물에 대한 대나무잎 추출물의 항균력. 한국식품과학회지, **27**, 1035 (1995)
8. 육창수 : 한국약품식물자원도감. 진명출판사, p.272 (1981)
9. 이창복 : 대한식물도감. 향문사, p.575 (1985)
10. 김옥경, 이은방 : 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구. 생약학회지, **24**, 213 (1993)
11. 이명렬, 이장순, 서화중 : 두릅나무 추출물이 Alloxan으로 유발된 가토의 고혈당에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, **17**, 57 (1988)
12. 이은방, 정춘식 : 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구. 약학회지, **37**, 581 (1993)
13. 마승진, 고병섭, 박근형 : 두릅수피에서 항미생물활성을 갖는 3,4-dihydroxybenzoic acid의 분리. 한국식품과학회지, **27**, 807 (1995)
14. Zaika, L.L. : Spices and herbs. Their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Safety*, **9**, 97 (1988)

---

(1995년 12월 20일 접수)