

정향의 화학 성분

박만기 · 박정일* · 신영근 · 신언경 · 김경호*

서울대학교 약학대학, *강원대학교 약학대학

(Received January 20, 1997)

Chemical Constituents of *Eugenia caryophyllata*

Man Ki Park, Jeong Hill Park[†], Young Geun Shin,
Un Kyung Shin and Kyeong Ho Kim*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

*College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 220-701, Korea

Abstract—Three compounds were isolated from the n-BuOH fraction of buds of *Eugenia caryophyllata* and their structures were identified as 3,3',4-tri-O-methylellagic acid, 3-O-β-D-glucopyranosyl-3,5,4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone and gallic acid by chemical and spectral evidence.

Keywords □ *Eugenia caryophyllata*, Myrtaceae, 3,3',4-tri-O-methylellagic acid, 3-O-β-D-glucopyranosyl-3,5,4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone, gallic acid

정향나무(*Eugenia caryophyllata* Thunberg)의 꽃봉우리인 정향은 주로 방향성 건위약으로 널리 사용되어 온 생약 중 하나로, 이제까지 많은 연구자들이 그 성분 및 약효에 관해 보고한 바¹⁻⁷⁾, 그 주요 성분으로는 eugenol, acetyleugenol, caryophyllene, humulene 등과 tannin류로서 eugeniin 등이 알려져 있다. 저자 등은 정향의 생리 활성 성분에 관한 연구의 일환으로 정향의 부탄을 가용성 분획으로 부터 3종의 화합물을 분리하였다.

실험 방법

시약 및 기기 - 실험에 사용한 정향(*Eugenia caryophyllata*)은 경동 시장에서 구입하였다. 특별한 언급이 없는 한 모든 시약은 1급 시약을 사용하였다. 컬럼 크로마토그래피용 실리카겔은 Kieselgel 60 (230~400 mesh ASTM, Merck Art. 9385), Kieselgel 60

(70~230 mesh ASTM, Merck Art. 7734)를 사용하였고, 박층크로마토그래피는 Kieselgel 60F₂₅₄ (layer thickness 0.25 mm, 20×20 cm, Merck Art. 5715)를 사용하였으며, TLC spot의 발색은 254 nm 또는 365 nm UV lamp 및 5% H₂SO₄ 용액 등을 사용하였다. NMR 용매로 DMSO-d₆은 Sigma사의 것을 사용하였다. UV는 Beckman DU-600 spectrometer(미국), IR은 Perkin-Elmer 1710 Spectrometer(영국), NMR은 Jeol JNM-GSX 400 spectrometer(400MHz, 일본), 질량분석기는 VG TRIO-II GC/MS system(영국), 선광도는 Jasco DIP-1000(일본)을 사용하였다.

추출 및 분리 - 경동 시장에서 구입한 정향 100 g을 분말로 만든 후 상온에서 메탄올로 3시간 초음파 추출하여 여과하는 조작을 3회 실시하고 추출물을 합하여 감압 농축하였다. 농축한 메탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 분액 깔대기에서 에틸로 추출하여 에틸층을 얻고 다시 수층을 부탄올로 추출하여 부탄올 분획(5g)을 얻은 후 부탄올 분획을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(230~400 mesh, 3×30 cm)를 실시하였다. 용매는

[†] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-880-7857 (팩스) 02-874-8928

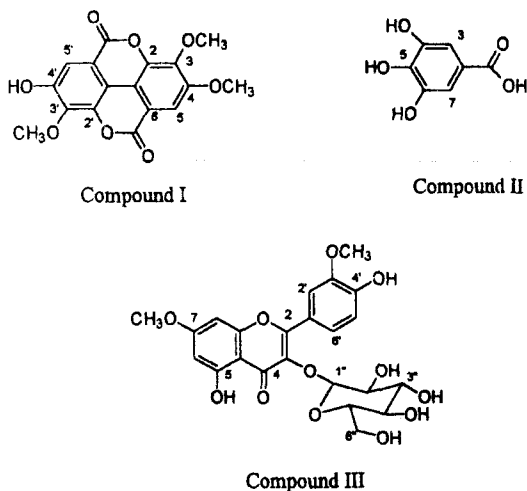


Fig. 1—Structure of Isolated compounds from *Eugenia caryophyllata*.

Compound 1 : 3, 3', 4-tri-O-methylelagic acid
 Compound 2 : gallic acid
 Compound 3 : 3-O- β -D-glucopyranosyl-3,5,4'-trihydroxy-7, 3'-dimethoxyflavone

CHCl₃/MeOH=2/1 (1.5 L)로 용출시켜 4개의 분획 (Fr. I-IV)으로 나누고, 다시 Fr. II (2.4 g)를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 (230~400 mesh, 2×30 cm, 용매: CHCl₃/MeOH=8/1(300 ml)→5/1(500 ml))를 실시하여 compound I (4 mg)과 II (50 mg)를 분리하였다. 또, Fr. I (0.6 g)을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 (230~400 mesh, 1×30 cm, 용매: CHCl₃/MeOH=15/1)를 실시하여 3개의 분획으로 나누고 (Fr. I-1, I-2, I-3), 이 중 Fr. I-1 (82.5 mg)을 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피 (230~400 mesh, 0.5×30 cm, 용매: CHCl₃/MeOH=8/1)를 실시하여 compound III (6 mg)을 분리하였다.

Compound 1 - mp : 250~252°C [α]_D : +20.9° (c=0.06, MeOH), R_f : 0.45 (CHCl₃/MeOH=20/1, Kieselgel 60F₂₅₄) UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) : 250 (4.21) nm IR ν_{\max} (KBr) : 3415, 2955, 1752, 1729, 1609, 1415 cm⁻¹ EIMS (70 eV) m/z (rel. int.%) : 344(M)⁺(100), 329(23.9), 286(22.0), 269(48.9), 172(10.1). ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) : 8.31 (1H, s, 4'-OH), 7.61 (1H, s, 5'-H), 7.53 (1H, s, 5-H), 4.09 (3H, s, 3-OCH₃), 4.06 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.01 (3H, s, 4-OCH₃). ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) : 158.49 (C-7'), 158.31 (C-7), 153.79

(C-4'), 152.62 (C-4), 141.47 (C-2'), 140.97 (C-3'), 140.82 (C-2), 140.20 (C-3), 113.37 (C-6'), 112.51 (C-1'), 111.92 (C-6), 111.66 (C-5), 111.19 (C-1), 107.47 (C-5'), 61.30 (C-3'OCH₃), 61.01 (C-3OCH₃), 56.72 (C-4'OCH₃).

Compound 2 - mp : 227°C R_f : 0.17 (CHCl₃/MeOH/H₂O=70/30/4, Kieselgel 60F₂₅₄) UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) : 217(5.306), 272(4.853) nm IR ν_{\max} (KBr) : 3496, 1650, 1543, 1386 cm⁻¹ EIMS (70 eV) m/z (rel. int.%) : 170(M⁺)(100), 153(92.2), 125(44.1), 79(33.5) ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) : 12.18 (1H, brs, 1-OH), 9.14 (2H, brs, 4, 6-OH), 8.82 (1H, brs, 5-OH), 6.91 (2H, s, 3, 7-H).

Compound 3 - mp : 140~142°C [α]_D : -1.38° (c=0.04, MeOH) R_f : 0.51 (CHCl₃/MeOH=5/1, Kieselgel 60F₂₅₄) UV λ_{\max} (log ϵ) : MeOH : 254 (4.26), 354 (4.17) MeOH+NaOH : 262 (4.25), 415 (4.27) MeOH+NaOAc : 257 (4.23), 361 (4.05) MeOH+NaOAc+H₃BO₃:256 (4.27), 358 (4.18) MeOH+AlCl₃ : 268 (4.25), 368 (4.05), 398 (4.03) MeOH+AlCl₃+HCl : 268 (4.25), 367 (4.03), 401 (4.11) nm IR ν_{\max} (KBr) : 3402, 2361, 1656, 1595, 1498, 1457 cm⁻¹ FABMS (6 kV) : 493 [M+H]⁺ ¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) : 12.59 (1H, s, 5-OH), 9.76 (1H, s, 4'-OH), 7.95 (1H, s, 2'-H), 7.55 (1H, d, J=8.5Hz, 6'-H), 6.91(1H, d, J=8.5Hz, 5'-H), 6.75 (1H, s, 6-H), 6.38(1H, s, 8-H), 5.56 (1H, d, J=7.2Hz, 1''-H), 3.85 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.83 (3H, s, 7-OCH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) : 177.50(C-4), 165.11(C-7), 160.88(C-5), 156.91(C-9), 156.28(C-2), 149.50(C-3'), 146.89 (C-4'), 133.22(C-3), 122.15(C-6'), 120.94(C-1'), 115.15(C-2'), 113.50(C-5'), 104.98(C-10), 100.73 (C-1''), 97.86(C-6), 92.28(C-8), 77.41(C-5''), 76.39 (C-3''), 74.29(C-2''), 69.81(C-4''), 60.58 (C-6''), 56.07(7-OCH₃), 55.69(3'-OCH₃)

결과 및 고찰

Compound 1 - Compound I은 mp 290~292°C의 화합물로서 FeCl₃ 반응에 양성이며 TLC상에서 365

nm UV를 쪼였을 때 푸른 형광을 띄었다. EI-MS 스펙트럼에서는 m/z 344에서 분자 이온 피크를 관찰하였다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 8.31 ppm의 singlet은 phenolic proton, 7.61, 7.53 ppm의 singlet 들은 aromatic proton, 그리고 기타 4.09, 4.06, 4.01 ppm의 singlet은 모두 methoxy proton으로 추정되었는데, 위의 EI-MS data와 함께 고려해 볼 때, compound I는 ellagic acid의 methyl ester로 추정되었다.

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 17개의 탄소 피크를 확인하였고, 155~108 ppm의 12개의 탄소 피크는 aromatic carbon, 61.30, 61.01, 56.72 ppm의 3개의 탄소 피크는 methoxy carbon, 그리고 158.49, 158.31 ppm의 두 탄소 피크는 각각 ellagic acid 구조내의 ester결합한 carbonyl의 탄소 피크로 각각 동정하였다. 기타 여러 가지 물리화학적인 data를 문헌치와 비교한 결과, compound 1은 *Mallotus japonicus*로부터 분리되고된⁸⁾ 3,3',4-tri-O-methylellagic acid(naustin B)로 확인, 동정하였다.

Compound 2 - Compound II는 mp 250~251°로 FeCl_3 반응에 양성인 화합물이었다. EI-MS 스펙트럼에서 m/z 170에서 분자 이온 피크를 확인하였고, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 12.18 ppm의 singlet은 carboxylic acid의 proton, 6.91 ppm의 singlet은 2 mole의 aromatic proton, 기타 9.14~8.82 ppm의 피크들은 모두 phenolic proton으로 확인하였다. 기타 여러 가지 물리 화학적인 data로부터 이 물질은 gallic acid로 추정되어 표준품의 gallic acid와 비교, 분석 (mp, co-TLC 등)한 결과 compound 2를 gallic acid로 확인, 동정하였다.

Compound 3 - Compound 3는 mp 140~142°C인 화합물로서 FeCl_3 및 $\text{Mg}+\text{HCl}$ 반응에 양성이며, UV, IR 스펙트럼 등에서 전형적인 flavonoid 화합물의 패턴을 나타내었다. UV 스펙트럼에서는 flavonoid 중 특히 flavonol 화합물의 특징적인 흡수대인 257, 354 nm에서 흡수가 관찰되었고, 여기에 파장 shift 시약으로서 NaOH를 가했을 때, band I의 극대 파장이 415 nm로 61 nm 장파장 이동하고 강도도 증가하므로 C-4' 위치에 -OH가 존재함을 알 수 있었다. 그러나 이때 320 nm 부근에 새로운 band는 관찰되지 않았으며, 또한 NaOAc의 첨가에 의한 band II의 장파장 이동이 관찰되지 않은 것으로 보아 C-7에 OH는 존재하지 않음을 추정할 수 있었다. 또, AlCl_3 를 가했을 때, band I이

398 nm로 44 nm 장파장 이동하였으나 HCl을 추가로 가했을 때는 AlCl_3 만 가했을 때에 비해 이 극대 파장의 변화가 미약한 것으로 보아 C-5위치에 -OH는 존재하나 B-ring에 ortho-dihydroxy group은 존재하지 않은 것으로 추정하였다.

Positive FAB-MS 스펙트럼에서는 m/z 493에서 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 의 피크를 관찰하였다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 12.59 ppm의 singlet은 A-ring의 5번 위치의 phenolic -OH로 확인하였고, 7.55, 6.91 ppm의 doublet ($J=8.5\text{Hz}$) 및 6.75, 6.38 ppm의 singlet은 각각 B-ring의 H-6', 5' 및 A-ring의 H-6, 8의 aromatic proton임을 알 수 있었다. 또한 5.56 ppm의 doublet은 J 값이 7.2Hz이며 1H에 해당하는 당의 anomeric proton으로 확인하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 23개의 탄소 피크를 확인하였다. 이 중 anomeric carbon의 피크는 100.73 ppm에서 관찰되는 것으로보아 당이 모핵에 O-glycosylation되어 있음을 확인하였고, 또 그 구성당은 문헌치와 비교한 결과 hexose인 glucose임을 추정할 수 있었다. 기타 aromatic 영역 및 methoxy carbon, 당의 결합 부위 등은 DEPT, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY, HMQC, HMBC 등의 방법을 통해 규명하였다. 이상의 분석 결과 및 여러 가지 물리화학적인 data들로부터, compound III는 3-O- β -D-glucopyranosyl-3, 5, 4'-trihydroxy-7, 3'-dimethoxyflavone⁹⁾로 확인, 동정하였다.

결 론

정향의 생리 활성 성분에 관한 연구의 일환으로 정향의 부탄을 가용성 분획으로부터 3종의 화합물을 분리하였다. Compound 1은 분자식 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_8$ 인 3,3',4-tri-O-methylellagic acid로, compound 2는 분자식 $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ 인 gallic acid 및 compound 3는 분자식 $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$ 인 3-O- β -D-glucopyranosyl-3,5,4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone로 각각 확인, 동정하였다. 이중 compound 1은 정향에서, compound 3는 *Eugenia* 속 식물에서는 처음으로 분리한 화합물이다.

감사의 말씀

이 연구는 과학기술처 연구비 지원에 의하여 이루어졌음.

문헌

- 1) Zheng, G. Q., Kenney, P. M. and Lam, L. K. T. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents, *J. Nat. Prod.*, **55**, 999-1003 (1992).
- 2) Uchida, T., Matsubara, Y. and Adachi, A. High-boiling constituents of clove oil (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) and hop oil (*Humulus lupulus* Linn.), *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1903-1904 (1986).
- 3) Iwamuro, H., Takenokuchi, H., Matsubara, Y. and Iizuka, Y. High-boiling constituents of clove oil (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) and hop oil (*Humulus lupulus* Linn.), *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2099-2100 (1983).
- 4) Yu, J. and Fang, H. Studies on the essential oils of clove buds and clove leaves, *Zhongcaoyao*, **12**, 340-342, 339 (1981).
- 5) Nonaka, G., Harada, M. and Nishioka, I. Eugeninin, a new ellagitannin from cloves, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 685-687 (1980).
- 6) Walter, R. H. β -Caryophyllene in native clove bud oil, *Phytochemistry*, **11**, 405-406 (1972).
- 7) Deyama, T. and Horiguchi, T. Components of the essential oil of clove (*Eugenia caryophyllata*), *Yakugaku Zasshi*, **91**, 1383-1386 (1971).
- 8) Arisawa, M., Fujita, A., Bai, H., Nagasaki, A., Morikoshi, K. and Morita, N. Studies on cytotoxic constituents in leaves of *Mallotus japonicus* (*Euphorbiaceae*), *Shoyakugaku Zasshi*, **44**, 179-182 (1990).
- 9) Cisowski, W. Flavonoids of *Ammi Visnaga* (Lamarck) fruits, *Pol. J. Chem.*, **60**, 77-84 (1986).