

## 비자나무 잎의 추출성분\*1

김진규\*2 · 배영수\*2

### Extractives from the Needles of *Torreya*\*1

Jin-Kyu Kim\*2 · Young-Soo Bae\*2

#### 요 약

비자나무 잎을 아세톤-물의 혼합용액으로 추출하고 *n*-hexane, chloroform, ethylacetate 및 물 분획으로 분류하여 동결건조하고 분말상 화합물로 조제하였다. 그 중에서 ethylacetate 용성 추출물을 메탄올-물 및 에탄올-헥산(*n*-hexane)의 혼합용액을 사용하여 Sephadex LH-20 칼럼상에서 크로마토그래피를 수행하였다. 비자나무 잎의 추출성분은 대부분 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin 및 (-)-epigallocatechin과 같은 flavan 화합물과 3'-O-methyl-(+)-catechin 및 3'-O-methyl(-)-epicatechin과 같은 flavan의 methyl ether 화합물로 구성되어 있었으며 그 이외에 benzoic acid계 화합물인 protocatechuic acid도 단리되었다. 단리된 화합물은 <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR, NOE와 CI-MS 분석에 의해 화학구조를 규명하였다.

#### ABSTRACT

The needles of torreya (*Torreya nucifera* S. et Z) were collected, extracted with acetone-H<sub>2</sub>O(7:3, v/v), fractionated with hexane, chloroform and ethylacetate, and freeze dried to give some dark brown powder. The ethylacetate soluble mixture was chromatographed on a Sephadex LH-20 column using a series of aqueous methanol and ethanol-hexane mixture as eluents. Most of the needle extractives were flavan and its methyl ether compounds such as (+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin, 3'-O-methyl-(+)-catechin and 3'-O-methyl(-)-epicatechin including protocatechuic acid, one of benzoic acids. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR, NOE and CI-MS analyses were performed to elucidate the structures of the isolated compounds.

**Keywords:** torreya, needle extractives, Sephadex LH-20, column chromatography, flavan, methyl ether

\* 1 접수 2001년 6월 9일, 채택 2001년 7월 27일

본 연구는 한국학술진흥재단의 1999년도 선도연구자 지원사업에 의해 수행되었음.

\* 2 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

## 1. 서 론

오늘날 산업의 발달과 생활수준 향상에 기인한 식품의 고급화 및 편의화 추세에 따라 가공식품의 수요가 급격히 증가하여 이들의 저장 및 유통을 위한 포장재로 가장 많이 사용되는 지류에 대한 해충 및 미생물에 의한 훼손이 빈번하게 일어나고 있으나 안전성 등의 문제로 구제효과는 크지만 독성이 높은 합성 약제의 사용이 금지되고 있는 실정이다. 따라서 최근 독성이 거의 없으며 안전성이 큰 천연물질을 이용한 보존제의 연구 개발에 많은 관심이 집중되고 있으며 이들 중 산림의 주자원인 수목의 추출성분 가운데 방향족 화합물로 구성되는 후라보노이드를 과학적으로 분석하고 그 구조를 확인하여 생리활성 및 약리효과 검증에 의한 천연 향균, 향충 물질로서 식품 포장재에 적용하고자 하는 연구노력이 활발하다(함 등, 1998). 그러나 약용식물 등의 추출성분을 이용한 기능성 물질, 의약품, 또는 환경농약 등의 개발에 대한 연구 노력에 비하여 수목에 관한 것은 상대적으로 미흡한 실정이다.

그렇지만 전통의학 및 한방에서는 예로부터 수목의 수피, 잎, 또는 열매 등을 중요한 약재로 이용하여 왔으며 최근에는 침엽수 잎에 많이 포함되어 있는 정유 성분을 이용한 천연 향균, 향충 물질의 개발 이용이 실현되고 있다.

따라서 본 연구에서는 수목 중에 포함된 천연 향균, 향충 물질을 탐색하기 위한 시도의 하나로 우리나라 남해안 및 제주도 일대에 자생하고 있으며 이전부터 구충, 탈모방지, 치질 및 어린이의 야뇨증 등에 효과가 탁월한 것으로 알려진(이, 1995) 비자나무 잎의 추출성분 분석을 시도하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 공시재료

1997년 4월 경상남도 남해군 이동면 난음리에서 자생하는 비자나무(*Torreya nucifera* S. et Z.) 잎을

채취하여 실험실에서 2주간 기건 후 분쇄기(screen  $\phi 0.6$  cm)를 이용하여 분쇄한 잎 1.5 kg을 공시재료로 사용하였다.

### 2.2 추출물의 분획

분쇄된 비자나무 잎 1.5 kg을 10 l의 유리용기에 넣고 아세톤:물(7:3, v/v) 혼합용액으로 3일간 침지하여 추출하였고 충분한 추출물의 양을 얻기 위하여 상기 과정을 3회 반복한 후 추출용액을 진공회전 농축기를 이용하여 유기용매를 모두 증발시켰다. 추출용액은 분획깔때기상에서 먼저 클로로포름용성 화합물을 분리하였으며 다음에 헥산용성, 에틸아세테이트용성, 수용성으로 순차적으로 분획 하였다. 각각의 추출물 분획은 농축한 후 동결 건조하여 보관하였으며 추출물의 양은 클로로포름용성 화합물 53.4 g, 수용성 132.5 g, 에틸아세테이트용성 8.4 g 과 고형분 4.9 g이었다.

### 2.3 칼럼크로마토그래피

에틸아세테이트용성 분획물로부터 순수한 단일 화합물을 분리하기 위하여 칼럼 크로마토그래피를 실시하였으며 충전물질로는 Sigma사의 Sephadex LH-20을 사용하였으며 용리용매는 메탄올-물(1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1, v/v) 및 에탄올-헥산(2:1, 2:3, v/v) 혼합액을 사용하였다. 칼럼에서 떨어지는 용출액은 fraction collector(Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았으며 칼럼이 거의 무색에 가까워지면 아세톤-물(1:1, v/v) 혼합액으로 칼럼을 세척하였다.

### 2.4 박층크로마토그래피

칼럼크로마토그래피를 수행하여 분리되는 화합물의 정제 여부를 확인하기 위해 박층크로마토그래피(TLC)를 실시하였다. TLC 박판은 Merck사의 DC-Plastikfolien cellulose F(Art.5565)를 사용하였으며, 전개용매로는 TBA(*t*-butanol-acetic acid-water

(3:1:1, v/v, solvent A)와 6% acetic acid(solvent B)를 사용하였다. TLC상에 전개된 화합물은 UV 램프(254 nm, 354 nm)로 관찰하여 화합물을 확인 한 후, vanillin-HCl-EtOH(60:0.15:6) 발색제를 분무하고 가열 건조하여 나타나는 색을 관찰하였다.

## 2.5 추출물의 구조분석

분리된 화합물의 구조분석을 위하여 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker DTX 400 MHz NMR과 서울대학교 기초과학 공동연구 기기원의 Bruker Avance 500 MHz NMR기기를 이용하였으며 분석용 매로는 methanol-d<sub>4</sub>와 acetone-d<sub>6</sub>를 사용하였다.

단리된 화합물의 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 및 NOE 스펙트럼을 서로 비교 분석하여 구조를 구명하였으며 강원대학교 공동실험실습관의 Micromass사의 Auto-spec M363 질량분석기의 CI-MS를 이용하여 정확한 분자량을 확인하였다.

## 2.6 화합물의 단리

에틸아세테이트용성 분획 추출물 8.4 g을 메탄올-물(2:1, v/v) 혼합액으로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 순차적으로 6개의 fraction(JE-1~JE-6)으로 분리하여 각 분획을 JE로 명명하였으며 동결건조하여 얻은 추출물의 양은 JE-1 0.21 g, JE-2 0.54 g, JE-3 1.20 g, JE-4 3.51 g, JE-5 1.60 g, JE-6 1.01 g 이었다. 이후 JE-4에 대한 연속적인 재크로마토그래피를 수행하여 JE-412에서 화합물 1((+)-catechin, 178 mg), JE-411222에서 화합물 2((-)-epicatechin, 132 mg), JE-411231에서 화합물 3((+)-gallo-catechin, 21 mg)과 화합물 4((-)-epicatechin, 34 mg), JE-411221에서 화합물 5(3'-O-methyl-(+)-catechin, 6 mg)와 화합물 6(3'-O-methyl(-)-epicatechin, 12 mg)을 얻었으며 JE-4111에서 메탄올-물(1:5, v/v)에 1시간 정치시킨 후 얻은 노란색 결정을 정제하여 benzoic acid계(Theander · Lundgren, 1989)의 화합물 7(protocatechuic acid, 41 mg)을 얻었다.

### 2.6.1 화합물 3

$R_f$  : 0.34(Solvent A), 0.36(Solvent B).

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz,  $\delta$ , methanol-d<sub>4</sub>) : 2.50(1H, *dd*,  $J=7.7$  Hz, 16.1 Hz, H<sub>ax</sub>-4), 2.80(1H, *dd*,  $J=5.2$  Hz, 16.1 Hz, H<sub>eq</sub>-4), 3.97(1H, *m*, H-3), 4.53(1H, *d*,  $J=7.1$  Hz, H-2), 5.86(1H, *d*,  $J=1.9$  Hz, H-8), 5.92(1H, *d*,  $J=2.2$  Hz, H-6), 6.40(2H, *s*, H-2',6').

<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz,  $\delta$ , methanol-d<sub>4</sub>) : 28.35(C-4), 69.02(C-3), 83.11(C-2), 95.80(C-8), 96.55(C-6), 101.00(C-10), 107.47(C-2',6'), 131.83(C-1'), 134.27(C-4'), 147.12(C-3',5'), 157.09(C-9), 157.86(C-5), 158.07(C-7).

### 2.6.2 화합물 4

$R_f$  : 0.30(Solvent A), 0.32(Solvent B).

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz,  $\delta$ , methanol-d<sub>4</sub>) : 2.70(1H, *dd*,  $J=2.7$  Hz, 16.7 Hz, H<sub>ax</sub>-4), 2.86(1H, *dd*,  $J=4.4$  Hz, 16.6 Hz, H<sub>eq</sub>-4), 4.16(1H, *br s*, H-3), 4.75(1H, *s*, H-2), 5.91(1H, *d*,  $J=2.2$  Hz, H-8), 5.93(1H, *d*,  $J=2.1$  Hz, H-6), 6.52(2H, *s*, H-2',6').

<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz,  $\delta$ , methanol-d<sub>4</sub>) : 29.43(C-4), 67.78(C-3), 80.16(C-2), 96.16(C-8), 96.66(C-6), 100.373(C-10), 107.26(C-2',6'), 131.81(C-1'), 133.87(C-4'), 146.95(C-3',5'), 157.59(C-9), 157.93(C-5), 158.25(C-7).

### 2.6.3 화합물 5

$R_f$  : 0.67(Solvent A), 0.46(Solvent B).

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz,  $\delta$ , methanol-d<sub>4</sub>) : 2.53(1H, *dd*,  $J=8.5$  Hz, 16.0 Hz H<sub>ax</sub>-4), 2.91(1H, *dd*,  $J=5.5$  Hz, 16.0 Hz H<sub>eq</sub>-4), 3.86(3H, *s*, OCH<sub>3</sub>), 4.02(1H, *m*, H-3), 4.61(1H, *d*,  $J=7.7$  Hz, H-2), 5.88(1H, *d*,  $J=2.1$  Hz, H-6), 5.95(1H, *d*,  $J=2.1$  Hz, H-8), 6.90(1H, *dd*,  $J=1.5$  Hz,  $J=8.1$  Hz H-6'), 6.81(1H, *d*,  $J=8.0$  Hz, H-5'), 6.99(1H, *d*,  $J=1.4$  Hz, H-2').

<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz,  $\delta$ , methanol-d<sub>4</sub>) : 29.01

(C-4), 68.89(C-3), 83.08(C-2), 95.52(C-8), 96.40 (C-6), 100.97(C-10), 111.91(C-2'), 115.97(C-5'), 121.39(C-6'), 132.09(C-1'), 147.49(C-3'), 148.89 (C-4'), 156.98(C-9), 157.60(C-5), 157.90(C-7), 56.40(OCH<sub>3</sub>).

2.6.4 화합물 6

R<sub>f</sub> : 0.53(Solvent A), 0.32(Solvent B).

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, δ, methanol-d<sub>4</sub>) : 2.74(1H, *dd*, *J*=2.5 Hz, 16.8 Hz, H<sub>ax</sub>-4), 2.88(1H, *dd*, *J*=4.4 Hz, 16.7 Hz, H<sub>eq</sub>-4, H<sub>ax</sub>-4), 3.86(3H, *s*, OCH<sub>3</sub>), 4.18(1H, *br s*, H-3), 4.60(1H, *br s*, H-2), 5.93(1H, *d*, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.95(1H, *d*, *J*=1.9 Hz, H-8), 6.90(1H, *dd*, *J*=1.5 Hz, *J*=8.1 Hz, H-6'), 6.78(1H, *d*, *J*=8.1 Hz, H-5'), 7.12(1H, *d*, *J*=1.5 Hz, H-2').

<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, δ, methanol-d<sub>4</sub>) : 80.02 (C-2), 67.60(C-3), 29.46(C-4), 158.047(C-5), 96.50(C-6), 157.88(C-7), 95.96(C-8), 157.39 (C-9), 100.12(C-10), 132.32(C-1'), 111.87(C-2'), 146.99(C-3'), 148.66(C-4'), 115.72(C-5'), 120.62 (C-6'), 56.39(OCH<sub>3</sub>).

2.6.5 화합물 7

R<sub>f</sub> : 0.71(Solvent A), 0.47(Solvent B).

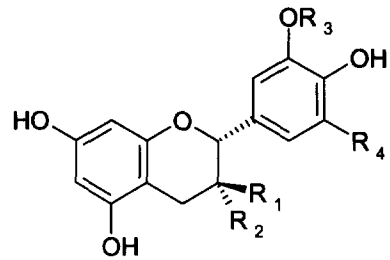
CI-MS : [M+H]<sup>+</sup> m/z 155.

<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, δ, acetone-d<sub>6</sub>) : 7.46(1H, *dd*, *J*=1.9 Hz, 8.2 Hz, H-6), 6.89(1H, *d*, *J*=8.29 Hz, H-5), 7.52(1H, *d*, *J*=1.8 Hz, H-2).

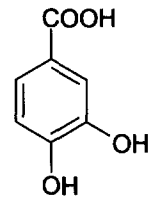
<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, δ, acetone-d<sub>6</sub>) : 113.53 (C-2), 115.30(C-5), 120.89(C-1), 121.40(C-6), 143.57(C-3), 148.76(C-4), 166.01(acid C=O).

3. 결과 및 고찰

비자나무 잎의 추출물중 에틸아세테이트용성 분획 으로부터 7개의 화합물을 단리하여 구조를 결정하였으며 그 중 (+)-catechin과 (-)-epicatechin은 이미



- 1 R<sub>1</sub>=OH ; R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H (+)-Catechin
- 2 R<sub>1</sub>= R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H ; R<sub>2</sub>=OH (-)-Epicatechin
- 3 R<sub>1</sub>=R<sub>4</sub>=OH, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H (+)-Gallocatechin
- 4 R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=OH (-)-Epigallocatechin
- 5 R<sub>1</sub>=OH ; R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=H ; R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub>  
3'-O-methyl-(+)-catechin
- 6 R<sub>1</sub>=R<sub>4</sub>=H ; R<sub>2</sub>=OH ; R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub>  
3'-O-methyl-(-)-epicatechin



7 Protocatechuic acid

여러 연구자에 의해 그 구조가 결정되어 보고된 바 있으며 (+)-gallocatechin과 (-)-epigallocatechin도 기존에 보고된 화합물이지만 국내에 자생하는 수목의 추출성분에서 드물게 함께 분리된 페놀성 화합물이다.

또한 flavan의 methyl ether 화합물도 침엽수 잎의 추출성분으로는 아직 보고되지 않은 물질이다.

3.1 (+)-Gallocatechin(3)과 (-)-Epigallocatechin(4)

JE4(3.51 g)를 MeOH-H<sub>2</sub>O(1:1, 1:3, 1:4, v/v)혼합액과 EtOH-Hexane(2:1, 2:3, v/v) 혼합액으로 재크로마토그래피를 실시한 후 최종적으로 MeOH-H<sub>2</sub>O (1:5, v/v) 혼합액으로 재크로마토그래피를 실

시하여 JE4112313에서 (+)-gallocatechin(21 mg), JE4112312에서 (-)-epigallocatechin(34 mg)을 단리하였다. 두 화합물의  $R_f$ 값은 각각 0.34(solvent A) 및 0.36(solvent B)과 0.30(solvent A) 및 0.32(solvent B)였고 vanillin-HCl-EtOH의 발색제에 적색 및 핑크색으로 반응하였다.

두 화합물의 구조적 차이는 C-3에 결합한 hydroxyl group의 입체구조에 차이가 있을 뿐 나머지는 동일한 구조를 갖고 있어 NMR data가 서로 매우 유사한 유형을 나타내었다.

먼저 (+)-Gallocatechin의  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼에서  $\delta$  2.50과  $\delta$  2.80의 두 개의 double doublet signal은 각각 axial과 equatorial의 두 개의 H-4 수소들을 나타내며  $\delta$  3.97에서 나타난 H-3의 signal은 이웃한 H-2의 수소 및 두 개의 H-4 수소의 영향으로 multiplet으로 나타났다. 또한,  $\delta$  4.53의 H-2는 H-3과의 coupling으로 doublet signal을 나타내었으며 coupling constant( $J$ )가 7.1 Hz로서 두 수소는 서로 *trans* 구조를 하고 있음을 나타낸다(Drewes · IIsley, 1969).  $\delta$  5.86과  $\delta$  5.92에서 나타난 doublet signal은 각각 A환의 H-8과 H-6으로 coupling 값이 각각 1.9 Hz와 2.2 Hz로서 두 수소가 서로 *meta* coupling을 하고 있음을 알 수 있다.  $\delta$  6.40에서의 singlet은 B환의 H-2'와 H-6'의 signal로 적분값이 두 개의 수소를 나타내고 있어 이들이 서로 대칭되어 있는 pyrogallol 형태임을 나타내었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼에서  $\delta$  107.47과  $\delta$  147.12의 signal은 각각 대칭을 이루고 있는 B환의 C-2'/6'과 C-3'/5'를 나타내고 있으며 C-4'는  $\delta$  134.27로 C-3'와 C-5'에 결합한 hydroxyl group의 입체장애에 기인하여 upfield되어 나타나고 있어 B환이 pyrogallol 형태임을 알 수 있었다. 나머지 signal은 Ohara · Hemingway (1989), 그리고 Bae 등(1994)이 보고한 (+)-catechin의 전형적인 A환 및 C환의 NMR 값과 일치하여 이 화합물이 (+)-gallocatechin임을 나타내었다. 한편 (-)-Epigallocatechin의 A환과 B환의  $^1\text{H-NMR}$ 은 화합물 3과 동일한 값을 나타내었으나  $\delta$  4.16과  $\delta$  4.75에서의 두 singlet signal은 각각 C환의 H-3과 H-2를 나타내는 것으로 두 수소가 서로 *cis* 구조를 갖고 있는 (-)-epicatechin과 동일하였다

(Ham 등, 1997; Kim 등, 1997).  $^{13}\text{C-NMR}$ 은 화합물 3의 A환 및 B환의 chemical shift와 유사하였으나 C-2에 결합되어 있는 B환과 C-3의 hydroxyl group이 서로 *cis* 구조를 하고 있어 C-2 및 C-3의 signal이 화합물 3과 비교하여 각각 2.95 ppm과 1.24 ppm upfield 되어  $\delta$  80.16과  $\delta$  67.78에서 나타났으며 Foo 등(1997)이 보고한 data와 동일한 값을 나타내었다. (+)-Gallocatechin과 (-)-epigallocatechin은 축합형 탄닌의 기본단위 화합물로서 식물계에 널리 분포되어 있으며 단량체로 존재하기도 하고 (+)-catechin, (-)-epicatechin 등과 함께 dimer나 trimer 또는 그보다 큰 단위로 결합되어 procyanidin 화합물을 구성하고 있다(Petereit, 1991).

### 3.2 3'-O-methyl-(+)-catechin(5)과 3'-O-methyl-(-)-epicatechin(6)

JE-4를 재크로마토그래피를 실시한 후 최종적으로 MeOH-H<sub>2</sub>O(1:5, v/v)혼합액으로 크로마토그래피를 실시하여 JE-4112212와 JE-4112213에서 3'-O-methyl-(+)-catechin(6 mg)과 3'-O-methyl-(-)-epicatechin(12 mg)을 단리하였다. 화합물 5의  $R_f$ 값은 0.67(solvent A), 0.46(solvent B) 이었으며 화합물 6은 0.53(solvent A), 0.32(solvent B)였고 vanillin-HCl-EtOH의 발색제에 모두 적색으로 반응하였다.

화합물 5와 6의 구조는 각각 (+)-catechin과 (-)-epicatechin의 B환에서 C-3'에 methoxyl group이 치환되어 있는 구조로  $\delta$  3.86에서 methoxyl group의 3개의 수소가 각각 하나의 signal로 각각 나타나고 있다.

화합물 5와 6의  $^1\text{H-NMR}$  값은 각각 (+)-catechin과 (-)-epicatechin의 A환 및 C환과 동일한 chemical shift를 보이고 있으나 methoxyl group의 영향에 기인하여 B환의 H-2' signal은 함 등(1997)이 보고한 화합물 1과 2의 signal과 비교하여 화합물 5와 6이 각각 0.19 ppm과 0.12 ppm 정도 downfield 되어 나타났다.  $^{13}\text{C-NMR}$ 에서 화합물 5의  $\delta$  111.91,  $\delta$  148.89,  $\delta$  147.49는 C-2', 3' 및 4'의 signal로

C-3'에 결합된 methoxyl group의 영향으로 화합물 1과 비교해서 C-2'는 2.49 ppm upfield되었으며 C-3' 및 C-4'는 각각 1.89 ppm과 3.19 ppm 정도 downfield 되어 나타났다. 한편 화합물 6의  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에서 B환의 C-2', C-3' 및 C-4'값은 각각  $\delta$  111.87,  $\delta$  148.66,  $\delta$  146.99로 화합물 5와 비슷한 값을 나타내었으며 이 등(1997)이 보고한 화합물 2와 비교하면 C-2'는 2.37 ppm upfield 되었으며 C-3' 및 C-4'는 각각 1.27 ppm과 2.77 ppm 정도 downfield되어 나타났다. 화합물 5와 6의 B환에 결합되어 있는 methoxyl group의 정확한 위치를 확인하기 위해 methoxyl group에 대하여 수행된 NOE 분석에서 화합물 5는 methoxyl group과 인접해서 결합되어 있는  $\delta$  6.99의 H-2' signal이 증가함으로써 H-3'에 methoxyl group이 결합한 구조임을 확인하였으며 화합물 6에서도  $\delta$  7.12에서 나타난 H-2'의 signal이 증가하여 화합물 5와 동일하게 B환의 C-3'에 methoxyl group이 결합되어 있음을 확인하였다. 따라서 화합물 5와 6은 B환의 C-3'에 methoxyl group이 결합한 구조로 Morimoto 등(1985)이 보고한 NMR data와도 동일한 값을 나타내었다.

한편 Morimoto 등(1985)은 녹나무속 및 생강나무속 수종으로부터 화합물 1, 2, 5, 6을 분리하였으며 Foo 등(1997)은 초본류인 *lotus pedunculatus*에서 화합물 1, 2, 3, 4 등을 분리하여 보고하였으나 비자나무 잎의 경우와 같이 수목의 추출성분에서 catechol 및 pyrogallol 형태의 B환을 지니는 flavan 화합물 (Agrawal 등, 1989)이 모두 포함되어 있는 것은 매우 예외적인 현상이다.

### 3.3 Protocatechuic acid(7)

JE-4111를 MeOH-H<sub>2</sub>O(1:5, v/v)에서 1시간 정도 정치시킨 후 노란색의 결정층을 따로 분리하여 41 mg의 순수한 protocatechuic acid를 얻었다. R<sub>f</sub>값은 0.71(solvent A), 0.47(solvent B)이었고 vanillin-HCl-EtOH 발색제에는 반응이 없었다.

$^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서 H-6의 signal은 이웃한 H-5와 H-2 두 수소의 영향으로  $\delta$  7.46에서 double

doublet으로 나타났으며 coupling 값이 각각 1.9 Hz 및 8.2 Hz로 H-5 수소와는 *ortho* coupling을 H-2와는 *meta* coupling을 하고 있으며  $\delta$  6.89의 doublet은 H-5의 signal로 coupling 값이 8.29 Hz로 H-6 수소와 서로 *ortho* coupling을 하고 있음을 나타낸다. 또한 H-2의 signal은 H-6 수소와 *meta* coupling되어  $\delta$  7.52에서 doublet으로 나타났으며 coupling 값은 1.8 Hz였다. 이상에서 살펴본 화합물 7의  $^1\text{H}$ -NMR 값은 catechol 구조의 특징적인 chemical shift를 나타내고 있다.  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta$  166.01에서 carboxyl group의 signal이 나타나고 있으며 hydroxyl group이 결합되어 있는 C-3과 C-4의 signal은 각각  $\delta$  143.57과  $\delta$  148.76에서 나타났으며 C-2, C-5 및 C-6는 각각  $\delta$  113.53,  $\delta$  115.30과  $\delta$  121.40에서 하나의 signal을 주었으며 carboxylic acid와 결합되어 있는 C-1은  $\delta$  120.89에서 signal을 나타내었다. 이와 같은 NMR 분석 결과는 김 (2000)이 보고한 protocatechuic acid의 그것과 정확하게 일치하였으며 이 화합물의 CI-MS 분석결과 분자량이  $[\text{M}+\text{H}]^+$  m/z 155로 분자량 154와 일치하였다.

## 4. 결 론

비자나무 잎의 에틸아세테이트용성 분획에 대한 칼럼크로마토그래피를 수행하여 flavan 화합물인 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (+)-gallocatechin 및 (-)-epigallocatechin을 분리하여 그 구조를 결정하였으며 methyl ether 화합물인 3'-O-methyl-(+)-catechin과 3'-O-methyl(-)-epicatechin을 분리하였고 benzoic acid계 화합물인 protocatechuic acid도 분리되었다.

비자나무 잎 추출성분에 catechol 및 pyrogallol B 환을 가지는 flavan 화합물이 모두 포함되어 있는 것은 매우 이례적인 경우로 수목의 추출성분에서는 아직 보고된 바 없는 특징으로 생각된다.

## 참고 문헌

1. Agrawal, P. K., M. C. Bansal, L. J. Porter and L. Y. Foo. 1989. Flavanoids. In: Carbon-13 NMR of flavonoids. ed. P. K. Agrawal. Elsevier. New York. pp. 432~449.
2. Bae, Y. S., J. F. W. Burger, J. P. Steynberg, D. Ferreira and R. W. Hemingway. 1994. Flavan and Procyanidin glycosides from the bark of Blackjack oak. *Phytochemistry*. 35(2): 473~478.
3. Drewes, S. E. and A. H. Ilsley. 1969. Isomeric leucofisetinidins from *Acacia mearnsii*. *Phytochemistry*. 8: 1039~1042.
4. Foo, L. Y., Y. Lu, W. C. McNabb, G. Waghorn and M. J. Ulyatt. 1997. Proanthocyanidins from *Lotus Pedunculatus*. *Phytochemistry*. 45(8): 1689~1696.
5. Ham, Y. H., W. G. Park, S. S. Han and Y. S. Bae. 1997. Flavonoid Glycosides from Needles of *Taxus cuspidata*(Taxaceae). *Mokchae Konghak*. 25(2): 45~51.
6. Kim, J. K., W. G. Park, Y. S. Bae. 1997. Flavonoid Glycosides from Needles of *Larix leptolepis*(Pinaceae). *Mokchae Konghak*. 25(2): 81~87.
7. Lee, S. K., W. G. Park and Y. S. Bae. 1997. Procyanidins from *Lindera obtusiloba* Bark. *Mokchae Konghak*. 25(2): 110~116.
8. Morimoto, S., G. Nonaka, I. Nishioka, N. Ezaki and N. Takizawa. 1985. Tannins and Related Compounds. XXI. Seven New Methyl Derivatives of Flavan-3-ols and a 1,3-Diarylpropan-2-ol from *Cinnamomum cassia*, *C. obtusifolium* and *Lindera umbellata* var. *membranacea*. *Chem. Pharm. Bull.* 33(6): 2281~2286.
9. Ohara, S. R. and W. Hemingway. 1989. The phenolic extractives in southern red oak(*Quercus falcata* Michx. var. *falcata*) bark. *Holzforschung*. 43: 149~154.
10. Petereit, F., H. Kolodziej and A. Nahrstedt. 1991. Flavan-3-ols and proanthocyanidins from *Cistus incanns*. *Phytochemistry*. 30(3): 981~985.
11. Theander, O. and L. N. Lundgren. 1989. Monoaryl Natural Products. In: Natural Products of Wood Plants I. ed. J. W. Rowe. Springer Berlin Heidelberg. pp. 369~371.
12. 김순영. 2000. 천속단(*Dipsacus asper*) 뿌리의 항산화 활성 성분에 관한 연구. 강원대학교 대학원 석사학위논문. pp. 21~46.
13. 이유미. 1995. 우리가 정말 알아야 할 우리나라 백가지. 현암사. pp. 480~485.
14. 함연호, 장기창, 배영수. 1999. 수목 추출물을 이용한 골관지 방충 처리제의 탐색. 한국목재공학회. '99 학술발표논문집. pp. 258~262.