

국내산 물푸레나무속 수종 수피의 추출성분¹

李尙克² · 裴映壽²

Extractives from the bark of domestic *Fraxinus* species¹

Sang-Keug Lee² · Young-Soo Bae²

요약

국내에 자생하는 물푸레, 쇠물푸레 그리고 들메나무의 수피를 채취하여 아세톤-물(7:3, v/v)로 추출한 후 동결건조시켜서 분말로 제조하였고 Sephadex LH-20 및 TSK 40F로 충전한 컬럼 상에서 메탄올, 에탄올 그리고 에탄올-헥산 혼합액을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 단리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 NMR스펙트럼을 사용하여 정확한 구조규명을 하였고 FAB-MS로써 분자량을 측정하였다. 쿠마린 유도체들이 다량으로 포함되어 있었으며 소량의 ester형태의 화합물들도 단리 되었다. 물푸레와 쇠물푸레에서는 aesculetin, aesculin 및 fraxetin과 같은 쿠마린 화합물들과 ligstroside와 oleuropein과 같은 ester형태의 화합물들이 모두 단리 되었으며 들메 나무에서는 ester형태의 화합물만 단리 되었다.

ABSTRACT

The barks of *Fraxinus rhynchophylla*, *Fraxinus sieboldiana* and *Fraxinus mandshurica*, ash trees grown in domestic, were collected, extracted with acetone-H₂O(7:3, v/v) and freeze dried to give some dark brown powder. A portion of the freeze dried powder was chromatographed on a Sephadex LH-20 and a TSK 40F column using a series of aqueous methanol, ethanol and ethanol-hexane mixture as eluents. Some spectrometric analyses such as NMR and FAB-MS including TLC were performed to identify the structures of the isolated compounds. The bark extractives contained a large amount of coumarin derivatives in addition to a small amount of ester compounds.

1. 접수 2001년 6월 20일 Received June 20, 2001

이 논문은 1998년 농림기술관리센타의 연구비에 의하여 연구되었음.

2. 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

The bark of *Fraxinus rhynchophylla* and *Fraxinus sieboldiana* contained a large amount of coumarin compound such as aesculetin, aesculin and fraxetin, and a small amount of ester type compounds such as ligstroside and oleuropein. However, the bark of *Fraxinus mandshurica* contained only a small amount of ester type compounds.

Key word : *Fraxinus rhynchophylla*, *Fraxinus sieboldiana*, *Fraxinus mandshurica*, bark, extractives, coumarin, ligstroside, oleuropein, ester compounds.

서론

물푸레나무과(Oleaceae : Olive Family)는 상록 또는 낙엽성이며 교목, 관목 또는 덩굴성 목본으로 전세계적으로 약 30속 600종이 온대 및 열대 지역에 분포하고 관상용, 향료재료로 중요한 식물군이다. 물푸레나무속(*Fraxinus*, Ash)은 60종으로 구성되며 북반구 온대지역에 주로 분포하고 우리 나라에는 물푸레나무, 쇠물푸레나무, 들메나무 등 3종이 자생한다.

물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla* Hance)는 물푸레나무과에 속하는 낙엽 활엽수로서 우리나라 전국의 산기슭이나 중턱의 골짜기에서 자생하며 목재는 매우 단단하고 쉽게 부러지지 않기 때문에 높은 강도를 요하는 소규모 농기구 등의 부품으로 많이 이용되어 왔다(김, 1995 ; 김, 1996 ; 임, 1994).

일반적으로 수고 8-15m 까지 자라며 수피는 회갈색 또는 흑갈색에 흰색 반점이 있으므로 백침목, 백심목이라고 부르기도 하고, 때로는 어릴 때 푸른색의 수피를 갖기 때문에 청피목 또는 진피수라고도 한다.(김, 1995)

물푸레나무의 껍질은 진피라고도 부르며 성질은 차고 맛은 쓰고 독이 없으며 간의 오랜 열기로 두눈에 피가 지고 부으면서 아픈것과 바람을 맞으면 눈물이 계속 흐르는 것을 낮게 하며 눈에 생기는 푸른 예막, 흰 예막을 없애고 열리(熱痢)와 부인의 대하, 어린이의 열을 겸한 간질을 낮게 한다(허, 1994 ; 중, 1994).

또한 입덧에도 효과가 있으며 특히 소엽, 수

엽, 해열약으로 설사, 이질, 결막염, 풍안누출과 눈의 백록 등과 여성의 붓종이나 대하, 냉증과 아이의 경기도 특효약으로 쓰였고 특히 중국에서는 눈병의 요약으로 전용되었고 강장제로도 두루 알려지기도 했다고 하며 천연염료의 원료로도 이용되어 왔다.

쇠물푸레나무(*Fraxinus sieboldiana* Blume)는 황해도 이남의 산중턱 바위 틈이나 계곡에 자생하며 낙엽 소교목으로 높이 5-10m로 자라고 소지는 회갈색이며 잎은 5-9개의 소엽으로 된 기수 우상 복엽이다. 꽃은 암수딴그루로 새 가지에서 정생 또는 액생 하는 길이 6-12cm의 원추 화서에 달리고 5월에 개화하며 열매는 시과로 선상 피침형 또는 도피침형이고 길이 2cm 정도이며 9월에 성숙한다(김, 1995).

들메나무(*Fraxinus mandshurica* Ruprecht)는 충청도를 제외한 전국의 해발 500-1500m의 깊은 산 계곡에 자생하는 낙엽교목으로 높이 30m이고 잎은 3-17개의 소엽으로 된 깃 우상 복엽이며 꽃은 암수 딴그루로 다수가 전년지엽액에서 나오는 복총상화서에 달리고 5월에 개화한다. 열매는 시과로 긴 타원상 피침형이고 길이 2.5-4cm이며 9-10월에 성숙한다(김, 1995).

본 연구는 물푸레나무과 중에서 우리나라의 산림에 널리 분포하고 있으나 특별한 용도를 찾지 못하여 이용도가 미약한 물푸레나무속 수종인 물푸레나무, 쇠물푸레나무 그리고 들메나무의 추출성분을 분리하고 정확한 구조를 결정함으로써 약리작용을 가지는 화합물들에 대

한 화학적인 기초자료를 얻고자 실시하였다.

재료 및 방법

2.1 공시재료

1996년 4월 강원대학교 학술림에서 자생하는 생장이 양호한 물푸레나무를 벌채하였으며 1998년 11월 경남 함양군 마천면 삼정리 자연휴양림에서 자생하는 쇠물푸레나무와 들메나무를 벌채하였다. 벌채한 각 수종은 즉시 박피하였고 실험실에서 약 2주간 건조한 후 분쇄기로써 분말로 제조하여 추출용 시료로 사용하였다.

2.2 추출물의 분획

물푸레나무, 쇠물푸레나무 그리고 들메나무 수피 분말 1kg을 10 l의 유리용기에 넣은 후 에 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용매를 약 7 l 가량 부어서 잘 섞이도록 흔들어 준 다음 마개를 막고 실험실에서 약 3일간 추출하였고 이 과정을 3회 반복 추출하였으며 추출액은 감압농축기로 농축하였다.

특히 물푸레나무 수피의 농축된 추출물과 쇠물푸레나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획에서는 다량의 결정성 화합물이 침전되었고 침전된 화합물은 따로 분리하여 아세톤을 사용한 재결정법으로 정제하였다.

결정성 화합물을 제외한 나머지 수종의 추출물은 분획할때기 상에서 먼저 클로로포름을 사용하여 클로로포름용성 분획을 하였고 다음에

헥산을 사용하여 헥산용성 분획을 하였으며 다시 에틸아세테이트를 사용하여 에틸아세테이트용성 및 수용성 분획을 하고 농축하여 분말상으로 조제하였다.

동결 건조된 각 수종의 분획의 양은 표 1과 같다.

2.3 칼럼크로마토그래피

에틸아세테이트 혼합물로부터 순수한 단일 화합물을 분리하기 위하여 칼럼 크로마토그래피 분석을 실시하였으며 사용된 칼럼은 여러 종류의 직경과 길이를 가지는 유리칼럼을 사용하였다. 충전물질로는 Sephadex LH-20과 TSK 40F를 사용하였고 용리용매로는 에탄올-헥산 혼합액과 메탄올 수용액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector (Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았다. 분리물질의 정제순도 확인은 셀룰로오스 박층 크로마토그래피(TLC)를 이용하여 확인하였다.

칼럼 크로마토그래피 분석을 위하여 물푸레나무는 에틸아세테이트용성 화합물 20g을 유리칼럼에 주입하고 용리용매로는 에탄올-헥산(5:1, v/v)을 사용하여 1차적인 분리를 실시하여 3개의 fraction으로 분리하였으며 칼럼상에서 분리되지 않는 결정부분은 따로 모아두었다. 각각의 fraction은 BE로 명명하였고, 농축후 동결건조된 양은 BE-1 11.13g, BE-2 0.79g 및 BE-3 0.67g이었으며 결정성 화합물은 aesculetin (화합물 I)으로 1.28g을 얻을 수 있었다.

표 1. 물푸레나무과 수종 수피의 각 분획별 수율

| 분획 수종 | Hexane sol. | Chloroform sol. | Ethylacetate sol. | Water sol. | Precipitate | Total |
|----------|----------------|--------------------|----------------------|---------------|-------------|-------|
| 물푸레나무 | | 8g | 50g | 150g | 10g | 218g |
| 쇠물푸레나무 | 59g | 24g | 24g | 163g | 11g | 281g |
| 들메나무 | 97g | 90g | 15g | 119g | | 321g |

이 화합물은 BE-1부분을 메탄올-물(2:1, 1:2, 1:3, v/v)로 연속적인 크로마토그래피를 실시하여 소량(14mg)로도 얻을 수 있었고 앞서 농축 시 생긴 결정(10g)과도 같은 화합물이었다. BE-3부분을 메탄올-물(3:1, 1:1, 1:2, 1:3, v/v)로 연속적인 크로마토그래피를 실시하여 aesculin(화합물 II) 30mg을 얻을 수 있었고 이후 BE-1부분을 다시 메탄올-물(2:1, 1:2, 1:5, v/v)로 연속적인 크로마토그래피를 실시하는 과정에서 fraxetin(화합물 III)을 결정(385mg)으로 얻을 수 있었다. BE-1을 메탄올-물(2:1, v/v)로 다시 칼럼크로마토그래피를 수행하였으며 3개의 fraction으로 분리하여 BE-11(1.33g), BE-12(7.5g), BE-13(0.39g)을 얻었다. BE-12를 메탄올-물(1:2 및 1:4, v/v)을 사용하여 연속적으로 재크로마토그래피를 실시하여 순수한 oleuropein(화합물 V) 40mg을 얻을 수 있었으며 BE-12를 먼저 메탄올-물(1:2 및 1:3, v/v)로 분리한 후 다시 에탄올-헥산(4:1, v/v)으로 재크로마토그래피를 실시하여 1g의 ligstroside(화합물 IV)를 얻을 수 있었다.

쇠물푸레나무는 에틸아세테이트용성 농축시 생긴 결정성 화합물(11g)을 뺀 나머지 15g을 유리칼럼에 주입하고 먼저 메탄올-물(5:1, v/v)을 사용하여 1차 분리를 실시하여 4개의 fraction으로 분리하였으며 각각의 fraction은 FE로 명명하였다. 농축 후 동결건조된 양은 각각 FE-1 4.12g, FE-2 5.78g, FE-3 2.34g, FE-4 0.41g이었다. 이 중에서 먼저 FE-3을 메탄올-물(2:1, v/v)을 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하여 fraxetin(화합물 III) 270mg과 aesculetin(화합물 I) 344mg을 얻을 수 있었다. 이후 다시 FE-2를 메탄올-물(2:1, 1:2, v/v)을 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 aesculin(화합물 II) 66mg을 얻을 수 있었다. FE-2부분을 다시 메탄올-물(1:4, 1:6, 1:8, v/v)을 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 ligstroside(화합물 IV) 84mg과 oleuropein(화합물 V) 40mg을 얻을 수 있었다.

들메나무는 에틸아세테이트용성 15.6g을 처음 메탄올-물(5:1 v/v)를 칼럼크로마토그래피를 실시하여 3개의 fraction으로 분리하였으며 DE로 명명하였다. 동결 건조된 각 fraction의 양은 DE-1 0.47g, DE-2 14g, DE-3 0.88g이었다. 이 중에서 DE-2를 메탄올-물(2:1, 1:3, v/v)과 에탄올-물(2:1, 1:2, v/v) 그리고 에탄올-헥산(2:1, v/v)을 용리용매로 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 ligstroside(화합물 IV) 188mg과 oleuropein(화합물 V) 27mg을 얻을 수 있었다.

2.4 화합물의 구조 결정

분리된 화합물의 순도를 확인하기 위하여 셀룰로오스 박층 크로마토그래피(TLC)를 실시하였으며 전개용매의 이동거리에 대한 화합물의 이동거리로 화학적 이동값 R_f 를 구하였다.

전개용매로 6% 초산을 사용하였고 이것을 solvent A로 하였으며 *t*-butanol-초산-물(3:1:1, v/v/v)을 solvent B로 하였다. 또한 UV 램프(ENF-240C, 254nm 및 365nm)하에서 전개용매에 전개시킨 TLC 판을 관찰하여 화합물의 존재를 확인하였으며 발색반응 관찰을 위하여 vanillin-HCl용액을 발색제로 사용하였다.

단리된 화합물들의 구조결정을 위하여 Bruker 400MHz NMR spectrometer를 사용하여 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 을 측정하였고 보다 정확한 구조분석을 위하여 COSY, HETCOR 및 DEPT등의 2D-NMR을 측정하였으며 분석용매로는 methanol- d_4 를 사용하였다. 분리된 화합물의 분자량 분석은 VG70-VSEQ Mass Spectrometer를 이용하여 FAB-MS분석을 실시하였다.

2.4.1 화합물 I : Aesculetin(6, 7-dihydroxy coumarin)

R_f : 0.67(solvent A), 0.22(solvent B)

$^1\text{H-NMR}$ (Acetone- d_6 , δ) : δ 6.2(1H, d,

$J=9.47\text{Hz}$, H-3), 6.8(1H, s, H-5), 7.1(1H, s, H-8), 7.9(1H, d, $J=9.50\text{Hz}$, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (Acetone- d_6 , ppm) : δ 103.4(C-8), 112.2(C-10), 112.5(C-3), 112.9(C-5), 143.8(C-7), 145.5(C-4), 149.9(C-6), 151.2(C-9), 162.8(C-2).

2.4.2 화합물 II : Aesculin(6-O- β -D-glucopyranosyl aesculetin)

R_f : 0.62(solvent A), 0.30(solvent B)

$^1\text{H-NMR}$ (δ , MeOH- d_4) : δ 3.4-4.0(6H, m, glucose), 4.85(1H, d, $J=16.9\text{Hz}$, glucose H-1), 6.19(1H, d, $J=9.45\text{Hz}$, H-3), 6.74(1H, s, H-5), 7.42(1H, s, H-8), 7.83(1H, d, $J=9.43\text{Hz}$, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm, MeOH- d_4) : δ 62.5(glc C-6), 71.3(glc C-4), 74.7(glc C-2) 77.5(glc C-5), 78.4(glc C-3), 104.1(glc C-1), 104.5(C-8), 112.8(C-10), 113.1(C-3), 116.4(C-5), 144.4(C-7), 146.0(C-4), 152.5(C-9), 153.2(C-6), 163.7(C-2).

2.4.3. 화합물 III : Fraxetin(7,8-Dihydroxy-6-methoxycoumarin)

R_f : 0.64(solvent A), 0.58(solvent B)

$^1\text{H-NMR}$ (δ , Acetone- d_6) : δ 3.88(3H, s, Me-5) 6.23(1H, d, $J=9.44\text{Hz}$, H-3), 6.8(1H, s, H-8), 7.9(1H, d, $J=9.42\text{Hz}$, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm, Acetone- d_6) : δ 57.8(C-OMe), 102.1(C-8), 112.8(C-10), 114.0(C-3), 134.7(C-6), 141.0(C-4), 141.2(C-5), 147.5(C-7), 151.1(C-9), 163.1(C-2).

2.4.5 화합물 IV : Ligstroside

R_f : 0.76(solvent A) 및 0.75(solvent B)

FAB-MS : $[M+H]^+$ m/z 541

$^1\text{H-NMR}$ (δ , MeOH- d_4) : 7.51(1H, s, H-3), 7.05(1H, d, $J=8.45\text{Hz}$, H-5"), 6.75(1H, d, $J=1.25\text{Hz}$, H-2"), 6.66(1H, dd, $J=4.69\text{Hz}$ and $J=1.93\text{Hz}$, H-6"), 6.07(1H, q, $J=7.12\text{Hz}$, H-8), 5.91(1H, s, H-1), 4.20(2H, dt, H_a - α), 4.10(2H, dt,

H_b - α), 3.96(1H, dd, $J=4.26\text{Hz}$ and $J=2.26\text{Hz}$, H-5), 3.7(3H, s, COOMe), 2.81(2H, t, $J=6.97\text{Hz}$ H- β), 2.69(2H, dd, $J=4.96\text{Hz}$ and $J=4.59\text{Hz}$, H $_a$ -6), 2.43(2H, dd, $J=2.10\text{Hz}$ and $J=2.08\text{Hz}$, H $_b$ -6), 1.64(3H, d, Me-10), 4.80(1H, d, $J=7.82\text{Hz}$, H-1'), 3.40(1H, d, $J=8.89\text{Hz}$ H-2'), 3.64~3.69(2H, m, H-3',4'), 3.29~3.33(1H, m, H-5'), 3.88(1H, dd, $J=7.53\text{Hz}$ and $J=1.55\text{Hz}$, H-6').

$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm, MeOH- d_4) : 95.40(C-1), 155.43(C-3), 109.64(C-4), 32.08(C-5), 41.54(C-6), 173.49(C-7), 125.15(C-8), 130.31(C-9), 13.84(C-10), 168.92(C-11), 101.10(C-1'), 75.02(C-2'), 78.68(C-3'), 71.72(C-4'), 78.19(C-5'), 62.99(C-6'), 131.15(C-1"), 116.71(C-2"), 145.19(C-3"), 146.50(C-4"), 117.33(C-5"), 121.59(C-6"), 67.18(C- α), 35.66(C- β), 52.21(C-OMe).

2.4.4 화합물 V : Oleuropein

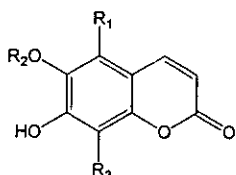
R_f : 0.80(solvent A) 및 0.75(solvent B)

FAB-MS : $[M+H]^+$ m/z 525

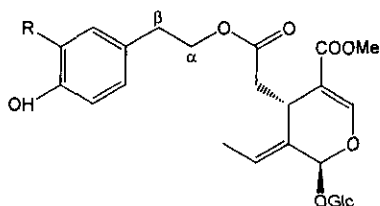
$^1\text{H-NMR}$ (δ , MeOH- d_4) : 7.4(1H, s, H-3), 6.96(2H, d, $J=8.0\text{Hz}$, H-2" and H-6"), 6.63(2H, d, $J=8.36\text{Hz}$, H-3" and H-5"), 5.98(1H, q, $J=7.03\text{Hz}$, H-8), 5.8(1H, s, H-1), 4.12(2H, dt, H_a - α), 4.0(2H, dt, H_b - α), 3.87(1H, dd, $J=4.25\text{Hz}$ and $J=4.27\text{Hz}$, H-5), 3.62(3H, s, COOMe), 2.73(2H, t, $J=6.91\text{Hz}$, H- β), 2.61(2H, dd, $J=4.36\text{Hz}$ and $J=4.36\text{Hz}$, H $_a$ -6), 2.34(2H, dd, $J=9.30\text{Hz}$ and $J=9.29\text{Hz}$, H $_b$ -6), 1.55(3H, d, Me-10), 4.72(1H, d, $J=7.79\text{Hz}$, H-1'), 3.32(1H, d, $J=8.52\text{Hz}$, H-2), 3.56~3.60(2H, m, H-3', 4'), 3.24~3.26(1H, m, H-5'), 3.80(1H, br d, $J=11.60\text{Hz}$, H-6').

$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm, MeOH- d_4) : 95.32(C-1), 155.44(C-3), 109.58(C-4), 32.08(C-5), 41.50(C-6), 173.47(C-7), 125.15(C-8), 130.28(C-9), 13.87(C-10), 168.90(C-11), 101.04(C-1'), 75.00(C-2'), 78.69(C-3'), 71.71(C-4'), 78.15(C-5'), 62.99(C-6'), 130.64(C-1"), 131.30(C-2"), 116.54(C-3"), 157.32(C-4"), 116.54(C-5"), 131.30(C-6"), 67.20(C- α), 35.42(C- β), 52.22(C-OMe).

결과 및 고찰



- 화합물 I : R₁, R₂, R₃=H
- 화합물 II : R₁, R₃=H, R₂=Glucose
- 화합물 III : R₁=H, R₂=CH₃, R₃=OH



- 화합물 IV : R=H
- 화합물 V : R=OH

물푸레나무 수피의 에틸아세테이트용성 부분 20g을 Sephadex LH-20과 TSK 40F를 사용하여 연속적인 칼럼 크로마토그래피를 실시하였으며 용리용매로는 메탄올 수용액, 에탄올 수용액, 에탄올-헥산 혼합액을 사용하였다. 이 과정에서 다섯 개의 화합물이 단리되었으며 이들 화합물은 2D-TLC를 이용하여 단일 물질의 여부를 확인한 후 NMR 및 FAB-MS분석을 통하여 정확한 구조를 결정하였다.

3.1 화합물 I

Aesculetin은 UV상에서 진한 갈색으로 보이며 발색제에는 무색으로 반응을 하였고 R_f 값은 0.67(solvent A)와 0.22(solvent B)이었다. 이 화합물은 쿠마린의 기본골격을 가지고 있으며 6번과 7번 탄소 위치에 OH기가 붙어 있는 형태이다.

¹H-NMR 스펙트럼에서 H-5와 H-8은 인접

한 수소가 없기 때문에 coupling이 일어나지 않으므로 7.1ppm과 6.8ppm에서 각각 singlet으로 나타나고 있으며 H-5는 C-7의 OH기와 C-9에 연결되어 있는 산소의 영향으로 H-8보다 upfield되어 나타나고 있다. 또한 H-3과 H-4는 서로의 coupling에 의해서 6.2ppm과 7.9ppm에서 doublet signal을 나타나고 있으며 이때 coupling 상수는 9.47과 9.50이었다 (Silverstein et al., 1991).

¹³C-NMR스펙트럼은 쿠마린의 전형적인 peak를 나타내고 있다. 특히 C-3과 C-4가 2중 결합으로 이루어져 있고 C-2에 carbonyl기가 결합되어 있기 때문에 conjugation효과가 일어나서 C-4는 145.5ppm으로 downfield되었고 C-3은 112.5ppm으로 upfield되어 나타나고 있는데 1번 위치에 산소가 없다면 C-3과 C-4는 각각 129.3ppm과 150.7ppm에서 나타나게 된다 (Silverstein et al., 1991). 또한 carbonyl기가 결합되어 있는 C-2는 1번 위치에 있는 산소의 영향으로 인해서 162.8ppm으로 upfield되어 나타나고 있으며 OH기가 붙어 있는 C-6과 C-7은 각각 149.9ppm과 143.8ppm에서 signal을 나타내고 있는 특징을 보여주고 있다(Kayser et al., 1995). 수소가 결합되어 있는 C-5와 C-8은 각각 112.9ppm과 103.4ppm에서 signal을 주고 있으며 quaternary 탄소인 C-9와 C-10은 각각 151.2ppm과 112.2ppm에서 나타나고 있다. neoflavone의 경우 C-3과 C-4는 보통 110ppm과 155ppm부근에서 나타나며 carbonyl기가 결합되어 있는 C-2는 160ppm부근에서 나타난다. 그리고 C-6은 수소가 결합이 되면 112ppm부근에서 나타나고 OH기가 결합될 경우 148ppm부근에서 나타난다 (Agrawal, 1989). 이것은 aesculetin과 유사한 형태의 peak를 보여주고 있다.

3.2 화합물 II

Aesculin은 흰색의 결정성 화합물로 UV램프에는 진한 갈색으로 나타났고 발색제에는 노란색으로 반응을 하였으며 이때 R_f값은

0.62(solvent A)와 0.30(solvent B)이었다. 이 화합물의 구조는 aesculetin과 기본골격은 동일하며 차이점은 aesculetin의 C-6위치에 glucose의 C-1'이 -C-O-C-결합을 하고 있는 것이다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 aesculetin과 거의 동일한 형태를 보이고 있다. 특징적인 것은 3.4-4ppm부근에서 glucose 수소들의 복잡한 peak가 나타나고 있는데 특히 glucose H-1'은 4.85ppm에서 doublet으로 나타나고 있으며 이것은 C-6이 glucose H-1'번과의 결합을 나타내 주는 전형적인 증거로서 이때 coupling 상수 값은 16.9로 나타났다. β -D-glucoside의 수소에 대한 설명에서 결합을 하고 있는 H-1'은 전형적으로 4.5ppm부근에서 downfield되어 나타나며 다른 5개의 수소들은 3~4ppm부근에서 복잡하게 나타난다(Harborne, 1994).

$^{13}\text{C-NMR}$ 역시 aesculetin과 동일한 형태를 나타내고 있다. 단지 60-80ppm 부근에 전형적인 glucose의 탄소 peak가 나타나고 있는데 보통 탄소는 ring을 형성할 때 downfield되어 나타나는 경향이 있다. 따라서 glucose의 C-2', 3', 4', 5'은 70-80ppm부근으로 조금 downfield되어 나타나고 있는 반면에 free상태에 있는 C-6'은 downfield되지 않고 62.5ppm에서 upfield되어 나타나고 있는 특징을 보이고 있다(Silverstein, 1991). 특히 결합한 C-1'은 전형적으로 97.4ppm에서 나타내는데 이 화합물의 경우 C-1'이 aesculetin의 C-6과 결합되어 있기 때문에 104.1ppm으로 downfield되어 나타나는 차이점을 보이고 있다(Agrawal, 1989). 한편 탄소는 주위에 인접해 있는 OH기의 영향으로 upfield되어 나타나는 경향이 있다. 따라서 aesculetin과 aesculin의 C-8은 C-7의 OH기의 영향으로 각각 103.4ppm과 104.5ppm으로 upfield되어 나타나고 있으며 aesculetin의 C-5는 112.9ppm으로 upfield되어 나타났고 aesculin의 C-5는 116.4ppm으로 downfield되어 나타나고 있다.

이것은 glucose가 aesculin의 C-6에 결합되어 있다는 증거이다. 나머지 aesculin탄소들의 peak는 aesculetin과 유사한 형태를 나타내고 있다.

3.3 화합물Ⅲ

Aesculetin과 함께 물푸레나무의 주성분을 이루는 것으로 UV램프에서는 진한갈색으로 보였으며 발색제에는 무색으로 반응을 하였고 이때 R_f 값은 0.64(solvent A), 0.58(solvent B)이었다. 이 화합물은 aesculetin과 기본골격은 동일하며 차이점은 aesculetin의 C-6위치에 methoxyl기가 결합을 하고 있고 C-8에 OH기가 결합을 하고 있는 점이다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 aesculetin과 동일한 형태를 보이고 있다. 단지 3.88ppm에서 전형적인 methoxyl기의 peak가 나타나고 있는데 이것이 C-8위치에 결합하고 있다는 것은 보통 7.1ppm부근에서 나타나야 하는 aesculetin의 H-8의 peak가 보이지 않는 것으로 알 수 있었다. 그리고 6.8ppm부근에 H-5가 singlet으로 나타나고 있으며 H-3과 H-4는 서로의 coupling에 의해서 6.2ppm과 7.9ppm에서 각각 doublet으로 나타나고 있는데 이때의 coupling상수는 9.44와 9.42였다. *Pelagonium Sidoides*로부터 단리된 aesculetin의 C-6위치에 methoxyl기가 치환된 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 3.86ppm부근에 methoxyl기의 peak가 나타나고 6.02ppm과 7.85ppm에서 H-3과 H-4의 peak가 나타나며 6.84ppm과 6.59ppm에서 H-8과 H-5가 나타난다고 보고하였는데 이 화합물의 peak형태와 일치하고 있다(Kayser et al., 1995).

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼 역시 aesculetin과 동일한 형태의 peak를 보여주고 있다. 먼저 57.8ppm부근에서 전형적인 methoxyl기의 peak가 보이고 있으며 이 methoxyl기가 결합된 C-8은 보통 104ppm 부근에서 나타나야 하는데 141.0ppm으로 downfield 되어서 나타나고 있는 것으로

methoxyl기가 C-8위치에 결합된 것을 확실하게 알 수 있었다. neoflavone의 경우 C-8에 수소가 결합되어 있으면 보통 104ppm에서 나타나며 OH기가 붙어 있을 경우 156ppm에서 나타난다고 하였다(Agrawal, 1989). 한편 C-3과 C-4가 이중결합으로 이루어져 있고 C-2에 carbonyl기가 결합되어 있기 때문에 conjugation효과가 일어나서 C-4는 141.2ppm으로 downfield되었고 C-3은 114.0ppm으로 upfield되어 나타나고 있다. 또한 carbonyl기가 결합되어 있는 C-2는 1번 위치에 있는 산소의 영향으로 인하여 163.1ppm으로 upfield되어 나타나고 있으며 OH기가 붙어 있는 C-6과 C-7은 각각 134.7ppm과 147.1ppm에서 나타나고 있다. *Pelagonium Sidoides*로부터 C-6 위치에 methoxyl기가 결합된 화합물의 ^{13}C -NMR스펙트럼에서 C-3과 C-4는 각각 113.3ppm과 144.6ppm에서 나타나고 carbonyl기가 결합된 C-2는 160.9ppm, 그리고 C-7은 145.6ppm에서 나타난다고 설명하였는데 이것은 fraxetin과 유사하며 단지 methoxyl기가 결합된 6번 탄소는 151.9ppm으로 downfield되어 나타나는 차이점을 보이고 있다(Kayser, 1995).

3.4 화합물 IV

이 화합물은 UV상에서 갈색의 단일 spot를 나타내었으며 vanillin 분무용액에 반응하지 않았다. R_f 는 0.80(solvent A)와 0.75(solvent B)로서 매우 높은 화학적 이동값을 보였다. FAB-MS를 이용한 분자량 분석은 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 값이 m/z 525였다. 이 화합물의 분자량은 524로서 양이온 FAB-MS분석을 실시하였으므로 m/z 525의 분자량 값은 제시된 구조와 일치하였다.

^1H -NMR에서 H-1과 H-3의 signal은 인접한 수소의 영향이 없으므로 각각 5.8ppm과 7.4ppm에서 단일peak를 나타내고 있다. H-5는 두 개의 H-6와의 coupling으로 3.87ppm에서 double doublet peak를 보이고 있으며 H-6도 입체화화적인 영향에 의하여 H-5와의 coupling

으로 2.61ppm과 2.34ppm에서 두 개의 double doublet signal들을 나타내고 있다. 한편 H-8은 H-10의 methyl기 수소와의 coupling으로 5.98ppm에서 quartet signal을 주고 있다. H-10의 methyl기는 1.55ppm에서 doublet signal을 주고 있으며 ester기의 methyl기는 3.62ppm에서 단일 peak를 주고 있다. 한편 H- α 의 두 개의 수소는 입체화화적인 차이에 기인하여 H- β 의 수소와의 coupling으로 4.0ppm 및 4.12ppm에서 두개의 double triplet signal을 주고 있으며 H- β 는 2.73ppm에서 하나의 triple signal을 보이고 있다. 방향족 phenol환은 H-2'과 H-6' 및 H-3'과 H-5'등 두 개의 대칭수소를 포함하고 있으며 이들은 각각 6.96ppm과 6.63ppm에서 ortho couple된 강한 doublet signal을 나타내고 있다(Inoue *et al.*, 1982; Sutarjadi *et al.*, 1978). β -D-(+)-glucose는 3.22~3.81ppm사이에서 특징적인 ^1H -NMR signal들을 주고 있으며 4.72ppm에서 doublet H-1' signal을 주고 있다(Harborne, 1994).

이상과 같은 ^1H -NMR spectrum은 Damtoft 등에 의해 보고된 Ligstroside와 일치하고 있다.

^{13}C -NMR도 ^1H -NMR과 동일한 화합물의 spectrum을 나타내었다. 먼저 methine탄소인 C-1은 95.32ppm에서 signal을 보이고 있으며 2중 결합으로 연결된 C-3 및 C-4는 155.44와 109.58ppm에서 signal을 나타내었다. C-5 및 C-6은 32.08과 41.50ppm에서 두 개의 peak를 주었다. carbonyl탄소인 C-7은 173.47ppm에서 특징적인 signal을 주었으며 또다른 2중 결합을 포함하고 있는 C-8과 C-9는 각각 125.15 및 130.28에서 두 개의 peak를 보이고 있으며 C-8과 결합하고 있는 methyl기의 C-10은 13.87ppm에서 하나의 signal을 보이고 있다. ester기를 형성하고 있는 또다른 carbonyl탄소인 C-11은 168.90ppm에서 signal을 주고 있으며 같이 결합하고 있는 methoxyl탄소는 52.22ppm에서 peak를 보이고 있다. 한편 C- α

및 C- β 인 두 개의 methylene탄소는 각각 67.20 및 35.42ppm에서 signal을 주고 있다.

또한 방향족 페놀환은 C-2"과 C-6" 및 C-3"과 C-5"인 두 개의 대칭탄소를 포함하고 있으며 이들은 각각 131.30 및 116.54ppm에서 특징적인 signal들을 보이고 있으며 수산기를 포함하고 있는 C-4"은 157.32ppm에서 peak를 나타내고 있으며 quaternary탄소인 C-1"은 130.64ppm에서 signal을 주고 있다(Agrawal, 1989; Harborne, 1994; Inoue *et al.*, 1982; Sutarjadi *et al.*, 1978).

β -D-(+)-glucose의 signal들은 101.04ppm에서 C-1"의 signal을 보이고 있으며 나머지 탄소들은 62.99~78.69ppm에서 5개의 특징적인 glucose의 signal을 보이고 있다.

이와 같은 $^{13}\text{C-NMR}$ data는 $^1\text{H-NMR}$ spectrum과 마찬가지로 Damtoft등에 의해 구주물푸레나무(*Fraxinus excelsior*)의 추출물에서 분리된 ligstroside의 NMR data와 일치하고 있다.

3.5 화합물 V

화합물 V도 UV상에서 갈색의 단일 화합물임을 확인할 수 있었으며 vanillin-HCl발색제에 노란색으로 반응하였다. R_f 는 0.76(solvent A)과 0.75(solvent B)로서 화합물 I 과 유사한 화학적 이동 값을 나타내었다. FAB-MS에 의한 분자량 분석은 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 값이 541로서 양이온 FAB-MS에 의한 분자량 값은 이 화합물의 원래 분자량에 수소원자 한 개가 포함된 분자량 값과 일치하였다.

$^1\text{H-NMR}$ 에서는 화합물 IV와 동일한 spectrum을 보이고 있으나 단지 방향족 페놀환에 두 개의 OH기가 인접하여 치환된 catechol형태의 방향족 고리를 지니고 있음을 나타내었다. 즉 H-2"은 H-6"과의 meta coupling에 의하여 6.75ppm에서 doublet signal을 주고 있으며 H-5"역시 H-6"과의 ortho coupling으로 7.05ppm에서 doublet을 나타내고 있다. 또한

H-6"은 H-5" 및 H-2"과의 ortho 및 meta coupling으로 6.66ppm에서 double doublet signal을 나타내었다(Inouye *et al.*, 1975; Inoue *et al.*, 1982).

$^{13}\text{C-NMR}$ 에서도 $^1\text{H-NMR}$ spectrum과 마찬가지로 화합물 IV와 동일한 탄소 signal들을 보이고 있으나 다만 방향족 페놀환의 탄소 spectrum이 catechol형태의 그것과 일치함을 나타내었다. 즉 C-1"은 131.15ppm에서 quaternary탄소의 signal을 보이고 있으나 C-2"은 116.71ppm에서 signal을 나타내었으며 수산기를 포함하고 있는 두 개의 탄소인 C-3" 및 C-4"은 각각 145.19 및 140.50ppm에서 특징적인 peak를 주었다. 또한 C-5" 및 C-6"도 117.33 및 121.59ppm에서 두 개의 signal을 주어 화합물 IV에 존재하고 있던 두 개의 대칭탄소가 존재하지 않고 있음을 보이고 있다(Agrawal, 1989; Harborne, 1994; Inouye *et al.*, 1975; Inoue *et al.*, 1982). 따라서 이 화합물도 Damtoft등에 의해 보고된 바 있는 oleuropein의 NMR data와 일치하고 있었다.

3.6 물푸레나무속 수종간 추출성분 비교

물푸레나무속 수종들은 물푸레나무와 쇠물푸레나무 그리고 들메나무에서 ligstroside와 oleuropein이 공통적으로 단리 되었다.

표 2에서 보는 바와 같이 물푸레나무와 쇠물푸레나무에서는 쿠마린 화합물인 aesculetin, aesculin 및 fraxetin이 단리 되었으며 ester형태의 화합물인 oleuropein과 ligstroside가 모두 단리 되었으며 들메나무에서는 oleuropein과 ligstroside 두 가지 화합물만 단리 되었다.

특히 aesculetin의 경우는 물푸레나무와 쇠물푸레나무에서 많은 양이 결정 형태로 단리 되었는데, 차이점은 물푸레나무에서는 추출물을 농축시킬 때 결정으로 단리 되었고 쇠물푸레나무의 경우는 에틸아세테이트용성 분획을 농축시킬 때 결정으로 단리 되었다.

표 2. 물푸레나무속 수종 수피로부터 단리된 화합물.

| 수종 화합물 | 물푸레나무 | 쇠물푸레나무 | 들메나무 |
|-------------|-------|--------|------|
| Aesculetin | +++ | +++ | |
| Aesculin | + | + | |
| Fraxetin | + | + | |
| Ligstroside | ++ | + | + |
| Oleuropein | + | + | + |

단리된 양 : + : 0.5g이하, ++ : 0.5~1.0g,
+++ : 1.0g이상

이외에, aesculin과 fraxetin도 칼럼상에서도 단리가 되었지만 결정 형태로도 단리 되어 쿠마린 화합물들이 물푸레나무속 수종의 주요 추출성분임을 알 수 있었다

들메나무의 경우는 쿠마린 화합물이 없으므로 나타났으며 oleuropein과 ligstroside외에 아직 분리하지 못한 화합물을 TLC상에서 확인 할 수 있었기 때문에 앞으로 지속적인 실험이 수행되어야 할 것이다.

결론

물푸레나무, 쇠물푸레나무 그리고 들메나무 수피 추출 혼합물중 에틸아세테이트용성 추출 성분을 단리하기 위하여 칼럼 크로마토그래피를 실시하였다. 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 경우 추출성분의 대부분은 쿠마린 유도체 화합물로 구성되어 있었으나 ligstroside 및 oleuropein과 같은 소량의 에스테르형 화합물도 포함되어 있었다. 이들 에스테르형 화합물은 이미 *Fraxinus excelsior*, *Fraxinus japonica* 및 *Fraxinus griffithi*등의 수종에서 단리되어 보고된 바 있으나 *Fraxinus rhynchophylla*에서는 본 연구에서 처음으로 단리되었다.

반면에 들메나무의 경우 쿠마린 유도체 화합물은 단리되지 않았고 ligstroside와 oleuropein만 이 소량으로 단리 되는 차이를 나타내었다.

한편, 쿠마린류 화합물과는 달리 이들 ester형태의 화합물들에 대한 생리활성 및 약리효과에 대한 연구는 아직 미흡한 실정으로서 국내에 자생하고 있는 활엽수 자원의 효율적인 이용을 위해 앞으로 이들에 관한 연구도 병행되어야 할 것이다.

참고문헌

1. 김태정. 1995. 한국의 산야초. 국일문화사. pp. 296~297
2. 김태욱. 1996. 한국의 수목. 교학사. pp. 536~538
3. 임업연구원. 1994. 한국산 주요수종의 성질과 용도. pp. 110~113
4. 중국본초도감. 1994. 여강출판사. vol. 3. p. 215
5. 허준. 1994. 동의보감. 여강출판사. vol. 5. pp.2814~2815
6. Agrawal, P. K. 1989. Carbon ¹³C-NMR of flavonoids. Elsevier Science Publishing Company INC : 96~123
7. Damtoft, S., H. Franzyk., S. R. Jensen. 1992. Excelsioside, a Secoiridoid Glucoside from *Fraxinus Excelsior*. *Phytochemistry* 31(12) : 4197~4201
8. Harborne, J. B. 1994. The Flavonoids. Champman and Hall LTD : 441~497

9. Inouye, H., Nishioka, T. and Kaniwa, M. 1975. Glucosides of *Fraxinus japonica*. *Phytochemistry* 14 : 304
10. Inoue, K., Nishioka, T., Tanahashi, T. and Inouye, H. 1982. Three Secoiridoid Glucosides from *Ligustrum japonicum*. *Phytochemistry* 21(9) : 2305~2311
11. Kayser, O., Herbert, K. 1995. Highly oxygenated coumarins from *pelargonium sidoides*. *Phytochemistry* 39(5) : 1181~1185
12. Silverstein, R. M., G. C. Bassler and T. C. Morrill. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compounds. Jhon Wiley & Sons, Inc. pp. 210~265.
13. Sutarjadi, Malingre, Th. M. and Vav Os, F. L. 1978. Iridoid and Phenolic Glycosides of *Fraxinus griffithi*. *Phytochemistry* 17 : 564