

측백나무(*Thuja orientalis* Linnaeus) 잎의 추출성분¹

이상극², 김진규², 함연호³, 배영수²

Extractives from the leaves of *Thuja orientalis* Linnaeus¹

Sang-Keug Lee², Jin-Kyu Kim², Yeon-Ho Ham³ and Young-Soo Bae²

요약

측백나무 잎을 채취하여 건조시킨 후 분말로 제조하여 아세톤-물(7:3, v/v)로 추출하고 hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, 그리고 수용성으로 분획하여 동결건조 시켰다. 그 중에서 EtOAc 분획을 Sephadex LH-20으로 충전한 칼럼에서 메탄올과 에탄올-헥산 혼합액을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 분리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 NMR스펙트럼을 사용하여 정확한 구조규명을 하였고 FAB-MS로써 분자량을 측정하였다. 주로 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside와 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside같은 flavononol 유도체들이 다량으로 포함되어 있었으며 비교적 적은 양의 (+)-catechin과 (+)-gallocatechin 같은 flavan 화합물들도 함께 분리되었다. 각 분획물들과 분리된 화합물들은 DPPH 라디칼 소거법을 이용하여 항산화실험을 실시하였으며, 모두 우수한 항산화 효능이 있는 것으로 나타났다.

ABSTRACT

2kg of the dried leaves of *Thuja orientalis* Linnaeus were ground, extracted with acetone-H₂O(7:3, v/v), concentrated, and fractionated with a series of hexane, CH₂Cl₂, EtOAc and water on a separatory funnel. Each fraction was freeze dried to give dark-brown powder and a EtOAc soluble portion of the powder was chromatographed on a Sephadex LH-20 column using a series of aqueous methanol and ethanol-hexane mixture as eluents. Spectrometric analyses such as NMR and FAB-MS including TLC were performed to characterize the structures of isolated compounds. The leave of *Thuja orientalis* Linnaeus contained a large amount of flavononol derivatives such as quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside and myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside in addition to a small amount of flavan compounds

1. 접수 2002년 5월 28일 Received on May 28, 2002
2. 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
3. 강원도 산림개발연구원 Forest Research Institute of Kangwon Province, Chunchon 200-140, Korea

such as (+)-catechin and (+)-gallicocatechin. The antioxidative activities of each fractions and isolated compounds were done by DPPH radical scavenging test, and all of them were indicated strong antioxidative activities.

Keywords : *Thuja orientalis* Linnaeus, leaves, extractives, flavonol derivatives, flavan compound, DPPH, antioxidative activity.

서론

측백나무(*Thuja orientalis* Linnaeus)는 중국이나 우리나라의 단양, 안동, 대구의 석회암 지대 해발 200~600m에 자생하는 상록 교목으로서 높이가 25m, 지름 1m에 달하고 수피는 회갈색이며 세로로 깊게 갈라진다. 왜소하고 지상부에 줄기가 많이 갈라져 나와 둥근 수형을 이루는 것을 천지백(for. *sieboldii*)이라고 하며 우리나라 특산으로 설악산 이북, 고산 지대에 분포하며, 생장이 느리고 관목상으로 누워 자라는 것을 눈측백(*T. koraiensis*, Korean Arbor-vitae)이라고 하는데 가지가 서양측백처럼 수평으로 퍼지고 향기가 있다. 이것을 지뽕나무라고도 하지만 지뽕이나 째뽕은 측백과 같은 뜻이므로 눈(누운)측백이라고 한다. 측백나무는 주로 관상용이나 생울타리용, 또는 약용으로 주로 이용되어 왔다(김, 1995).

최근 천연물에 대한 관심과 연구가 활발해지고 있으며 특히, 목재 추출성분에 대하여 식품관련 산업과 의약분야에서 실용화를 시도하고 있다. 또한 목재 추출성분 중 생리활성이 뛰어난 성분들을 이용한 기능성 물질로서의 활용방안이 지속적으로 이어지고 있고, 이미 솔잎을 이용한 식품이 개발되기도 하였다. 그러나 소나무 외에 국내에 자생하고 있는 다른 침엽수 잎의 추출성분에 관한 연구나 실험은 아직 미흡한 실정이다. 본 연구는 침엽수 잎의 추출성분들의 효율적 이용에 관한 연구의 하나로, 측백나무 잎의 추출성분을 분리하고 화학구조를 결정하여 천연물을 이용한 생리활성 보조제 및 약리적 이용에 응용하기 위

한 자료를 얻기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

2.1. 공시재료

2001년 4월 경상남도 진주시 용동에서 측백나무잎을 채취하여 실험실에서 약 2주간 건조한 후 분쇄기를 사용하여 분말로 조제하였다.

2.2. 추출물의 분획

기건된 측백나무잎 분말 2kg을 10ℓ의 유리용기에 넣고 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용액에 침적하여 실험실에서 약 3일간 추출하였으며, 충분한 양을 얻기 위하여 이와 같은 조작을 4회 반복 실시하여 모아진 추출액은 감압농축기를 이용하여 농축하였다.

농축된 추출물은 분획갈때기상에서 hexane, CH₂Cl₂, EtOAc를 이용하여 hexane-용성, CH₂Cl₂ 용성, EtOAc용성 및 수용성분획으로 분리하고 감압 농축기를 이용하여 농축하였다. 농축된 추출물들은 동결건조 하여 분말로 된 hexane용성 화합물 39.52g, CH₂Cl₂용성 화합물 75.68g, EtOAc 용성 화합물 39.01g, 수용성 화합물 169.62g을 얻을 수 있었다. 본 실험에서는 EtOAc용성 화합물을 분석하였다.

2.3. 칼럼크로마토그래피

EtOAc 분획에서 순수한 단일 화합물을 단

리하기 위하여 칼럼 크로마토그래피를 실시하였으며 여러 종류의 직경과 길이를 가지는 유리칼럼을 사용하였다. 충전물질로는 Sephadex LH-20을 사용하였고 용리용매로는 에탄올-헥산 혼합액과 메탄올 수용액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector(Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았다. 단리물질의 확인은 셀룰로오스 박층 크로마토그래피(TLC)를 이용하여 확인하였다.

칼럼크로마토그래피 분석을 위하여 측백나무잎의 에틸아세테이트용성 화합물 22.92g을 유리칼럼에 주입하고 용리용매로는 MeOH-H₂O(4:1, v/v)를 사용하여 1차 분리를 실시하여 4개의 부분으로 분리하였다. 농축후 동결 건조된 양은 FL-1 0.58g, FL-2 9.65g, FL-3 9.78g, FL-4 0.98g이었으며 FL-3을 다시 MeOH-H₂O(2:1, v/v)를 사용하여 재크로마토그래피를 실시하여 FL-31 0.27g, FL-32 2.91g, FL-33 0.18g, 결정 3.72g으로 분리 할 수 있었다. 이 중에서 FL-32 부분을 MeOH-H₂O(1:2, 1:4, v/v)과 EtOH-Hexane(4:1, v/v)을 사용하여 FL-3213과 FL-3223에서 (+)-galocatechin (169mg)을 분리하였고, FL-3212와 FL-3222에서 (+)-catechin(1.09g)을 분리 할 수 있었다. 다시 FL-324 부분을 EtOH-Hexane(4:1, v/v)과 MeOH-H₂O(1:4, v/v)를 사용하여 연속적인 크로마토그래피를 실시하여 FL-3242에서 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside(130mg)를 분리하였고, FL-3243에서 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside(47mg)를 분리 할 수 있었다. 칼럼크로마토그래피를 실시하고 농축하는 과정에서 많은 양의 노란색 결정(3g)이 생겼는데 NMR 분석결과 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside와 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside가 혼합되어 있는 것이었으며 그 양으로 보아 이 두 화합물이 측백나무잎의 주요 구성성분임을 알 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)을 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 plate를 관찰하여 화합물의 존재를 확인하였으며 발색반응 관찰을 위하여 varillin-HCl용액을 분무하였다.

단리된 화합물들의 구조결정을 위하여 Bruker 400MHz NMR spectrometer를 사용하여 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR을 측정하였고 분석용매로는 CD₃OD를 사용하였다. 분리된 화합물의 분자량 분석은 VG70-VSEQ Mass Spectrometer를 이용하여 FAB-MS분석을 실시하였다.

2.5. DPPH radical 소거법을 이용한 항산화 실험

측백나무 잎에서 분리한 화합물과 분획물들을 가지고 DPPH radical 소거능을 이용한 항산화 실험을 실시하였다.

각 분획물과 화합물들을 적당한 농도로 희석한 메탄올 용액 4ml와 0.15mM의 DPPH 1ml를 섞은 후 상온에서 30분간 반응시킨 뒤 514nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. 항산화 효과는 시료 무첨가 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC₅₀)로 나타내었다. 항산화력은 합성항산화제인 BHT와 천연항산화제인 α -tocopherol과 비교하면서 각 화합물 및 분획물의 IC₅₀를 구하여 항산화력이 우수한 물질을 탐색하고자 하였다.

2.6. 분리된 화합물

본 실험에서 분리된 화합물들의 화학적 이동값(R_f), NMR Data 및 분자량은 다음과 같다.

2.6.1. 화합물 I : (+)-catechin

R_f : 0.55(solvent A), 0.38(solvent B)

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 2.50(1H, dd, J=8.14Hz, J=16.12Hz, H-4ax), 2.84(1H, dd, J=5.45Hz, J=16.13Hz, H-4eq), 4.56(1H, d, J=7.48Hz, H-2), 3.97(1H, m, H-3), 5.85(1H, d, J=2.16Hz, H-6), 5.92(1H, d, J=2.13Hz, H-8), 6.71(1H, dd, J=1.69Hz, 8.16Hz, H-6'), 6.76(1H, d, J=8.08Hz, H-5'), 6.83(1H, d, J=1.50Hz, H-2').

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 28.5(C-4), 68.8(C-3), 82.8(C-2), 95.5(C-8), 96.3(C-6), 100.8(C-10), 115.2(C-2'), 116.1(C-5'), 120.0(C-6'), 132.2(C-1'), 146.2(C-3'), 146.2(C-4'), 156.9(C-9), 157.6(C-5), 157.8(C-7).

2.6.2. 화합물 II : (+)-galocatechin

R_f : 0.45(solvent A), 0.35(solvent B)

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 2.50(1H, dd, J=7.77Hz, 16.15Hz, H-4ax), 2.80(1H, dd, J=5.28Hz, 16.15Hz, H-4eq), 3.96(1H, m, H-3), 4.52(1H, d, J=7.14Hz, H-2), 5.85(1H, d, J=2.09Hz, H-6), 5.92(1H, d, J=2.13Hz, H-8), 6.40(2H, br s, H-2', 6').

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 27.0(C-4), 67.7(C-3), 81.8(C-2), 94.5(C-8), 95.2(C-6), 99.7(C-10), 106.1(C-2', 6'), 130.5(C-1'), 133.0(C-4'), 145.8(C-3', 5'), 155.8(C-9), 156.5(C-5), 156.8(C-7).

2.6.3. 화합물 III :

quercetin-3-O-β-D-rhamnopyranoside

R_f : 0.63(solvent A), 0.25(solvent B)

FAB-MS : [M+H]⁺ m/z 449

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 0.93(3H, m, H-Me), 3.29~4.22(4H, m, H-2'', 3'', 4'', 5''), 5.34(1H, d, J=1.18Hz, H-1''), 6.19(1H, d, J=2.08 Hz, H-6), 6.36(1H, d, J=2.10Hz, H-8), 6.88(1H, d, J=8.30Hz, H-5'), 7.30(1H, dd, J=2.00 Hz, 8.29Hz, H-6'), 7.33(1H, d, J=1.99Hz, H-2').

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 15.0(C-Me), 69.2(C-5''), 69.3(C-3''), 69.4(C-2''), 70.5(C-4''), 92.0(C-8), 97.1(C-6), 100.8(C-1''), 103.1(C-10), 113.6(C-5'), 114.1(C-2'), 120.1(C-6'), 120.4(C-1'), 133.5(C-3), 143.7(C-3'), 147.1(C-4'), 155.8(C-9), 166.6(C-2), 160.5(C-5), 163.4(C-7), 176.9(C-4).

2.6.4. 화합물 IV :

myricetin-3-O-β-D-rhamnopyranoside

R_f : 0.62(solvent A) 및 0.24(solvent B)

FAB-MS : [M+H]⁺ m/z 465

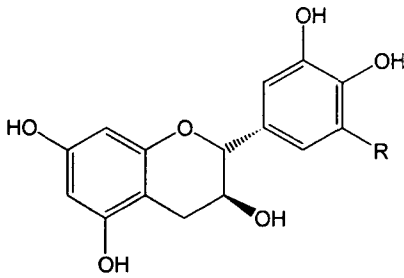
¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 0.95(3H, m, H-Me), 3.30~4.22(4H, m, H-2'', 3'', 4'', 5''), 5.31(1H, d, J=1.33Hz, H-1''), 6.20(1H, d, J=2.05 Hz, H-6), 6.36(1H, d, J=2.04Hz, H-8), 6.95(2H, br s, H-2', 6').

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 17.6(C-Me), 71.8(C-5''), 72.0(C-3''), 72.1(C-2''), 73.3(C-4''), 94.6(C-8), 99.8(C-6), 103.6(C-1''), 105.8(C-10), 109.5(C-2', 6'), 121.8(C-1'), 136.2(C-3), 137.8(C-4'), 146.8(C-3', 5'), 158.5(C-9), 159.4(C-2), 163.2(C-5), 165.8(C-7), 179.6(C-4).

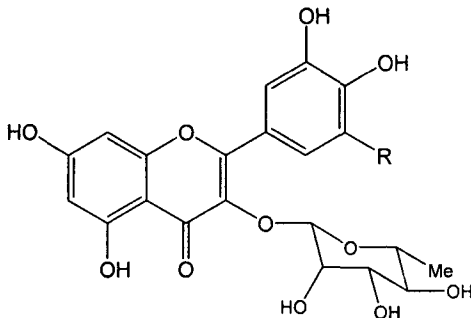
결과 및 고찰

측백나무잎의 에틸아세테이트용성 분획 20g 을 Sephadex LH-20을 사용하여 연속적인 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 네 개의 화합물을 분리하였으며 이들 화합물은 2D-TLC를 이용하여 단일 물질의 여부를 확인한 후

NMR 및 FAB-MS분석으로 그 구조를 결정하였다.



R=H, (+)-catechin(I)
R=OH, (+)-gallocatechin(II)



R=H, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside(III)
R=OH, myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside(IV)

3.1. 화합물 I ((+)-catechin)

화합물 I 은 (+)-catechin으로서 대표적인 flavan계통의 화합물이며 UV램프로 관찰하면 갈색으로 보이고 발색제에는 적색을 나타내며 이때 화학적 이동값 R_f 는 0.55(solvent A), 0.38(solvent B)이었다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.85ppm과 5.92ppm에서 두 개의 doublet은 H-6과 H-8을 나타내는 peak로서 서로 meta coupling이므로 J 값은 2.16Hz와 2.13Hz이다.

이것은 phloroglucinol A환의 전형적인 signal을 보이고 있는 것이다(Bae *et al.*, 1994). 2.50ppm에서 나타나는 double doublet signal은 H-4의 axial 수소로서 vicinal 수소인 H-3에 의해서 8.14Hz의 J 값과 geminal 수소인 H-4의 equatorial 수소에 의해서 16.12Hz의 J 값을 갖는다. 2.84ppm의 double doublet signal은 H-4의 equatorial수소로서 역시 vicinal 수소인 H-3에 의해서 5.45Hz의 J 값과 geminal 수소인 H-4의 axial 수소에 의해서 16.13Hz의 J 값을 나타내고 있다. 3.97ppm의 복잡한 peak는 H-3의 수소로서 인접한 H-2과 H-4ax, H-4eq수소에 의해 multiplet을 보이고 있다(함, 2000; Foo *et al.*, 1989). 또한 H-2는 H-3과의 coupling으로 4.56ppm에서 doublet signal을 보이고 있으며 이때 J 값은 7.48Hz였다. H-2'는 6.83ppm에서 H-6'과의 coupling으로 doublet signal을 나타내고 있으며 J 값은 meta coupling이기 때문에 1.50Hz이었다. 그리고 H-5'은 H-6'과의 ortho coupling으로 6.76ppm에서 J 값 8.08Hz의 doublet signal을 보여주고 있다. 6.71ppm의 double doublet signal은 H-6'의 peak로서 인접한 H-2'과 H-5'의 영향으로 각각 1.69Hz, 8.16Hz의 J 값을 나타내고 있다. 이상은 이 화합물이 catechol B 환 형태를 가지고 있음을 보여주고 있다(함, 2000; Bea *et al.*, 1994).

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼은 $^1\text{H-NMR}$ 과 동일한 화합물임을 보여주고 있다. 28.50ppm값은 전형적인 flavan-3-ol의 C-4 peak로서 flavonoid가 갖는 carbonyl기가 치환되어 있지 않음을 알 수 있다. 68.80ppm과 82.83ppm의 peak들은 각각 C-3과 C-2에 해당되는 것으로서 flavan-3-ol의 C환의 전형적인 signal을 나타내고 있다(함, 2000; Agrawal, 1989). B환의 구조는 catechol의 형태로서 146.21ppm과 146.23ppm에서 수산기가 결합된 C-3'과 4'의 signal이 나타나고 있으며 수산기가 결합되어 있지 않은 C-2', C-5' 그리고 C-6'은 각각 115.24, 116.07, 120.03ppm에서 나타나고 있다.

이것은 전형적인 catechol B환의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼 peak를 보여주고 있다(Foo *et al.*, 1989; Agrawal, 1989). 또한 phloroglucinol A환의 수산기가 결합되어 있는 C-6과 C-8은 각각 96.27, 95.48ppm에서 전형적인 peak를 보이고 있으며, 나머지 C-5, C-7 그리고 C-9는 157.81, 157.56, 156.90ppm에서 나타나고 있다(함, 2000; Agrawal, 1989).

3.2. 화합물 II ((+)-gallocatechin)

화합물 II는 (+)-gallocatechin으로서 역시 대표적인 flavan계통의 화합물이며 UV램프에는 진한 갈색으로 나타났고 발색제에는 적색으로 반응을 하였으며 화학적 이동값 R_f 는 .045(solvent A)와 0.35(solvent B)이었다.

이 화합물 II와 화합물 I 과의 차이점은 B환이 catechol형태가 아니라 C-5'에 수산기가 하나 더 치환되어 있는 pyrogallol형태를 하고 있다는 점이다. 따라서 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 보면 6.40ppm에서 B환의 H-2', 6'의 signal이 서로 대칭이기 때문에 하나의 큰 peak로서 나타나고 있으며 그 외에 나머지 수소들의 peak들은 화합물 I 과 동일하게 나타나고 있다(Foo *et al.*, 1997; Foo *et al.*, 2000; 함, 2000).

$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 역시 B환이 pyrogallol형태이기 때문에 C-3', 5'와 C-2', 6'가 서로 대칭이므로 수산기가 결합되어 있는 C-3',5'이 C-2',6'보다 downfield되어 145.8ppm에서 나타나고 있고 C-2', 6'는 106.1ppm에서 peak를 보이고 있다(Foo *et al.*, 1997). 그리고 C-4'은 peak는 C-3', 5'의 수산기의 영향으로 화합물 I 보다 13ppm정도 upfield되어 133ppm에서 나타나는 차이를 보이고 있다(함, 2000; Foo *et al.*, 1989; Agrawal, 1989; Foo *et al.*, 2000). 나머지 탄소들의 peak들은 화합물 I 과 동일한 형태를 보여주고 있다.

3.3. 화합물 III

(quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside)

화합물 III인 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside는 flavonol유도체로서 quercetin의 3번 위치에 rhamnose가 결합된 형태의 화합물로서 B환이 catechol 형태를 하고 있다. 이 화합물은 UV램프로 관찰하면 갈색으로 보이고 발색제에는 노란색으로 반응을 한다. 이때, 화학적 이동값 R_f 는 0.63(solvent A), 0.25(solvent B)로 나타났고 FAB-MS 스펙트럼은 분자량 449로 이 화합물의 분자량 448과 정확히 일치하고 있다.

$^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 7.33ppm의 signal은 B환의 H-2'의 peak로서 H-6'과의 meta coupling으로 J 값이 1.99Hz이었으며 7.30ppm에서의 signal은 H-6'의 peak로서 H-2'와 H-5'의 영향으로 double doublet으로 나타나고 있다. 6.88ppm의 signal은 H-5'의 peak로서 H-6'과의 ortho coupling으로 J 값은 8.30Hz이었다. 6.36ppm과 6.19ppm의 signal들은 H-8과 H-6에 해당하는 peak로서 서로 meta coupling이기 때문에 doublet으로서 J 값은 각각 2.10Hz와 2.08Hz이다(함, 2000; Oleszek *et al.*, 2002). 3번 위치에 결합하고 있는 rhamnose의 H-1"은 5.34ppm에서 downfield되어 doublet peak로 나타나고 있고 rhamnose의 나머지 peak들은 3.29~4.22ppm에서 나타나고 있으며 rhamnose의 methyl기는 0.93ppm에서 전형적인 peak를 보여주고 있다(Agrawal, 1992; Oleszek *et al.*, 2002).

$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 C-4는 176.9ppm으로 flavonol의 전형적인 carbonyl을 나타내고 있다. A환의 수산기가 결합되어 있는 C-7과 C-5는 각각 163.4ppm과 160.5ppm에서 나타나고 있으며 C-6과 C-8은 97.1ppm과 92.0ppm에서 peak가 나타나고 있는데 이것은 전형적인 phloroglucinol A환을 보여주는 것이다(함, 2000; Oleszek *et al.*, 2002; Agrawal, 1989). C-2와 C-3은 이중결합을 하고 있기 때

문에 flavan의 그것보다 크게 downfield되어 각각 166.6ppm과 133.5ppm에서 peak를 나타내고 있으며 B환에서 수산기가 결합되어 있는 C-3'와 C-4'는 143.7ppm과 147.1ppm에서 peak를 보여주고 있고, 수산기가 결합되지 않은 C-2',5',6'는 각각 114.1ppm, 113.6ppm, 120.1ppm에서 peak를 보여주고 있는데, 이것은 역시 전형적인 catechol B환의 형태를 나타내는 것이다(함, 2000). C-3에 결합되어 있는 rhamnose의 C-1"은 100.8ppm에서 downfield되어 나타나고 있으며 나머지 rhamnose의 탄소들은 70ppm부근에서 나타나고 있으며 rhamnose의 methyl기의 탄소는 15.0ppm에서 전형적인 peak를 나타내고 있다(Agrawal, 1992; Harborne, 1994; Oleszek *et al.*, 2002).

3.4. 화합물 IV (myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside)

화합물 IV도 역시 flavanol 유도체인 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside으로서 myricetin의 3번 위치에 화합물 III과 같이 rhamnose가 결합된 형태이며 이 화합물은 B환이 pyrogallol 형태를 하고 있는 차이를 보이고 있다.

이 화합물도 UV램프로 관찰하면 갈색으로 보이고 TLC상에서는 노란색을 띠며 발색제에도 노란색으로 반응을 한다. 이때, 화학적 이동값 R_f 는 0.62(solvent A), 0.24 (solvent B)로 나타났고 FAB-MS 스펙트럼은 분자량 465로 이 화합물의 분자량 464와 일치하고 있다.

이 화합물 IV와 화합물 III과의 차이점은 B환이 catechol 형태가 아니라 C-5'에 수산기가 하나 더 치환되어 있는 pyrogallol 형태를 하고 있다는 점이다(함, 2000). 따라서 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 보면 H-5'의 signal이 보이지 않고 6.95ppm에서 B환의 H-2',6'의 signal이 서로 대칭이기 때문에 하나의 큰 peak로서 나타나고 있으며 그 외에 나머지 수소들의 peak들은 화합물 III과 동일하게 나타나고 있다(Mahmoud *et al.*, 2001; Timbola *et al.*, 2002). $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서도 역시 B환이 pyrogallol 형태이기 때문에 C-3',5'와 C-2',6'가 서로 대칭이므로 수산기가 결합되어 있는 C-3',5'이 그렇지 않은 C-2',6'보다 downfield되어 146.8ppm에서, C-2',6'는 109.5ppm에서 하나의 큰 peak로서 나타나고 있다(함, 2000). 그리고 역시 C-4'의 peak는 양형의 C-3',5'의 수산기의 영향으로 (+)-catechin보다 10ppm정도 upfield되어 137.8ppm에서 나타나는 차이를 보이고 있다.

Table 1. Antioxidation activities of the extractives of leaves of *Thuja orientalis* Linnaeus.

| | Compound | IC ₅₀ (μg) |
|---|--|------------------------------------|
| Control | BHT | 12 μg |
| | α -tocopherol | 14 μg |
| Extractives of the leaves of <i>Thuja orientalis</i> Linnaeus | Hexane soluble fraction | - |
| | CH ₂ Cl ₂ soluble fraction | 22 μg |
| | EtOAc soluble fraction | 19 μg |
| | H ₂ O soluble fraction | 42 μg |
| | (+)-Catechin | 11 μg |
| | (+)-Gallocatechin | 13 μg |
| | Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside | 14 μg |
| Myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside | 25 μg | |

나머지 탄소들의 peak들은 화합물Ⅲ과 동일한 형태로 나타나고 있다(Barca *et al.*, 2000; Seidel *et al.*, 2000).

3.5. DPPH radical 소거법을 이용한 항산화 실험결과

측백나무 잎의 각 분획물과 분리된 화합물들을 가지고 DPPH radical 소거법을 이용하여 기초적인 항산화 실험을 실시하였다. 기준물질로는 합성 항산화제인 BHT와 천연 항산화제인 α -tocopherol을 사용하여 항산화능을 비교하였다.

분획물들 중에서 hexan용성은 점도가 높아서 실험을 실시할 수 없었으며 수용성을 제외하고 모두 어느 정도 우수한 항산화 효능을 나타내었다. 그리고 분리된 화합물들 중에서는 (+)-catechin과 (+)-gallocatechin이 기준물질과 거의 같은 우수한 항산화능을 나타내었으며 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside와 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside도 유의적인 항산화 효과를 나타내었다.

결 론

측백나무 잎의 에틸아세테이트용성 분획을 sephadex LH-20으로 충전한 칼럼크로마토그래피를 실시하여 flavan 화합물인 (+)-catechin과 (+)-gallocatechin을 분리하였고, flavanonol 배당체인 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside와 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside를 분리하였다. quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside와 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside는 다량으로 분리되어 측백나무 잎의 EtOAc용성 분획은 대부분 이 두 종류의 화합물로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

항산화 실험결과는 분획물 중에는 EtOAc용성과 CH₂Cl₂용성 분획이 어느정도 우수한 활성을 보였고, 화합물들 중에는 (+)-cate-

chin, (+)-gallocatechin, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside가 기준물질과 비슷한 높은 활성을 보였으며 myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside 역시 유의적인 활성을 나타내었다.

참고문헌

1. 김태욱, 1996, 한국의 수목, 교학사, pp. 49.
2. 함연호, 2000, 사시나무속과 버드나무속 주요 수종 수피의 추출성분에 관한 연구, 강원대학교 박사학위논문.
3. Agrawal, P. K., 1989, Carbon ¹³C-NMR of flavonoids, Elsevier Science Publishing Company INC, pp. 337, 445~447.
4. Agrawal, P. K., 1992, NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides, *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 10, pp. 3307~3330.
5. 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*, Vol. 35, No. 2, pp. 473~478.
6. Braca, A., A. R. Bilia, J. Mendez and I. Morelli, 2000, Myricetin glycosides from *Licania densiflora*, *Fitoterapia*, Vol. 72, pp. 182~185.
7. Foo, L. Y. and J. J. Karchesy, 1989, Procyanidin dimers and trimers from Douglas fir inner bark, *Phytochemistry*, Vol. 28, No. 6, pp. 1743~1747.
8. Foo, L. Y., Y. Lu, W. C. McNABB, G. WAGHORN and M. J. ULYATT, 1997, Proanthocyanidins from *Lotus Pedunculatus*, *Phytochemistry*, Vol. 45, No. 8, pp. 1689~1696.

9. Foo, L. Y., Y. Lu, A. L. Molan, D. R. Woodfield and W. C. McNabb, 2000, The Phenols and prodelphinidina of white clover flowers, *Phytochemistry*, Vol. 54, pp. 539~548.
10. Harborne, J. B. 1980. The Flavonoids. Chapman and Hall LTD, pp. 64.
11. Mahmoud, I. I., M. S. A. Marzouk, F. A. Moharram, M. R. El-Gindi and A. M. K. Hassan, 2001, Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves, *Phytochemistry*, Vol. 58, pp. 1239~1244.
12. Oleszek, W., A. stochmal, P. Karolewski, A. M. simonet, F. A. Macias and A. Tava, 2002, Flavonoids from *Pinus sylvestris* needles and their variation in trees of different origin grown for nearly a century at the same area, *Biochemical Systematics and Ecology*.
13. Seidel, V., F. Bailleul and P. G. Waterman, 2000, (Rel)-1 β ,2 α -di-(2,4-dihydroxy-6-methoxybenzo γ 1)-3 β ,4 α -di-(4-methoxyphenyl)-cyclobutane and other flavonoids from the aerial parts of *Goniothalamus gardneri* and *Goniothalamus thwaitesii*, *Phytochemistry*, Vol. 55, pp. 439~446.
14. Timbola, A. K., B. Szpoganicz, A. Branco, F. D. Monache and M. G. Pizzolatti, 2002, A new flavonol from leaves of *Eugenia jambolana*, *Fitoterapia*, vol. 73, pp. 174~176.