

## 오리나무에서 분리된 Diarylheptanoid의 항산화작용 및 구조상관활성

이재희 · 염승환 · 김민기 · 김현정 · 심재걸 · 이민원\*  
중앙대학교 약학대학

### Antioxidative Activities of Diarylheptanoids from *Alnus japonica* and Their Structural Relationship

Jae-Hee Lee, Seung-Hwan Yeom, Min-Kee Kim, Hyun-Jung Kim,  
Jae-Gul Shim, and Min-Won Lee\*

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

**Abstract** - Antioxidative activities against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical were evaluated for ten diarylheptanoids, 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-xylopyranoside(1), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside(2), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(3), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane(4), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-one-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(5), oregonin(6), hirsutanonol(7), hirsutenone(8), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane-3-O- $\beta$ -D-xylopyranoside(9) and platyphylloside(10), which were isolated from *Alnus japonica*. Aglycones (4, 7 and 8) and mono glycosides (3, 6 and 9) showed more strong antioxidative activities than diglycosides (1 and 2) against the DPPH radical. Especially, hirsutenone(8) showed superior activity among ten diarylheptanoid.

**Key words** - *Alnus japonica*, Antioxidative activity, DPPH, Diarylheptanoid, hirsutenone, Structural Relationship

오리나무 *Alnus japonica* Steud는 Betulaceae(자작나무과)에 속하며 나엽활엽교목으로 높이 20 m, 지름 70 cm에 달하며 회갈색으로 얇게 갈라져 벗겨지며 가지는 갈색 또는 자갈색을 띤다. 잎은 난상 장타원형으로 길이 6-12 cm, 나비 2-5.5 cm이고 끝이 뾰족하며 잔톱니가 있어서 물오리나무등과는 쉽게 구별이 된다.<sup>1)</sup> 오리(五里) 마다 심었다고 해서 오리나무로 불리우며 한방에서는 이식물의 수피를 적양(赤楊)이라 부르며, 청열(淸熱), 강화(降火) 하는 작용이 있고,<sup>2)</sup> 민간적(서울지역)으로 숙취해소 등의 목적에도 응용한 것으로 나타나 있다.<sup>3)</sup> 함유성분에 대한 보고로는 diarylheptanoid 계열을 비롯한 flavonoid, tannin등 페놀성 화합물이 많이 함유된 것으로 알려져 있다.<sup>4-15)</sup> 생리활성에 관한 연구로는 diarylheptanoid 화합물에 의한 NO 및 COX-2 생성억제 효과, 멜라닌생성 억제효과, 항산화효과 등을 비롯한 다양한 생리활성이 알려져 있다.<sup>16-19)</sup> 본 연구에서는 오리나무

(*Alnus japonica* Steud) 수피에서 분리된 10종의 diarylheptanoid 화합물의 항산화작용과 이들 구조간의 활성관계에 대한 결과를 보고하고자 한다.

#### 실험방법

##### 시료물질

본 실험에서 사용한 diarylheptanoid 화합물(1-10)은 오리나무(*Alnus japonica*, 2.5 kg)에서 분리된 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-xylopyranoside(1), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside(2), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(3), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane(4), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-one-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(5), oregonin(6), hirsutanonol(7), hirsutenone(8), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane-3-O- $\beta$ -D-xylopyranoside(9) 및 platyphylloside(10)를 사용하였다.<sup>20)</sup>

\*교신저자(E-mail) : mwlee@cau.ac.kr  
(FAX) : 063-290-1567

### 시약 및 기기

항산화효력 측정용 시약인 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), L-ascorbic acid는 Sigma에서 구입하였고, 99.5% ethanol은 Merck에서 구입하여 사용하였다. 흡광도는 Human TU-1800PC (1800SPC)(Korea)를 사용하여 측정하였다.

### 항산화작용측정

**래디칼 소거작용의 측정** - Hatano *et al.*의 방법에 의하여<sup>21)</sup> 실시하였다. 즉 시료를 각 농도별로 조제한 용액 100  $\mu$ l (control: 99.5% ethanol)에 0.1 mM DPPH 용액(99.5% ethanol) 1.9 ml을 가한다. 각 시료는 7가지 농도로 조제하였다. Vortex mixer로 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분 동안 incubation 시킨다. 이후 spectrophotometer를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조약물로는 L-ascorbic acid를 7가지 농도로 조제하여 측정하였다. 각 시료의 항산화작용은 IC<sub>50</sub>치(DPPH 래디칼 형성을 50%로 억제하는 데 필요한 농도)로 나타내었다.

### 실험결과 및 고찰

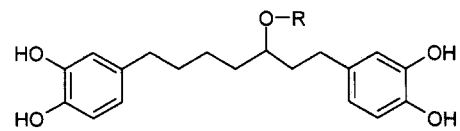
오리나무(*A. japonica*) 수피에서 분리된 10종의 diarylheptanoid 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-xylopyranoside(1), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-O- $\beta$ -D-apiofuranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside(2), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(3), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane(4), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-heptane-3-one-5-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(5), oregonin(6), hirsutanonol(7), hirsutenone(8), 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane-3-O- $\beta$ -D-xylopyranoside(9) 및 platyphylloside(10)의 DPPH radical 소거법에 의한 항산화활성을 검색한 결과 일반적으로 DPPH radical에 대하여 억제 활성을 나타내었다(Table I 참조).

구조간의 활성에서 먼저 당의 유무에 관계로써, 1(105.7  $\mu$ g/ml) 및 2(108.0  $\mu$ g/ml)와 같이 당이 2개 붙어있는 diglycoside, monoglycoside 인 3(83.7  $\mu$ g/ml)보다 비교적 항산화활성이 약하게 나타났다. 또한 4(76.0  $\mu$ g/ml), 7(85.0  $\mu$ g/ml), 8(65.0  $\mu$ g/ml), 9(83.3  $\mu$ g/ml) 등 당이 붙어있지 않은 aglycone 형태가 더욱 효과가 좋았다. 또한 aglycone(4, 7 및 8)에서 heptane moiety의 케톤과 알콜의 유무에 관계로써 7(85.0  $\mu$ g/ml)과 같이 케톤과 알콜이 같이 존재하는 구조보다 알콜형태로만 존재하는 4(76.0  $\mu$ g/ml)가 효과가 좋았으며, 특히 8(65.0  $\mu$ g/ml)과 같이 탈수 된 형태의 구조가 가장 강력한 효과를 보였다. 한편 유일하게 방향족환이 catechol type이 아닌 10은 효과를 나타내지 않았다(Table I 및 Scheme 1).

**Table I.** IC<sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml) values of diarylheptanoids against the DPPH radical

Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
L-Ascorbic acid	75.7
1	105.7
2	108.0
3	83.7
4	76.0
5	104.7
6	90.7
7	85.0
8	65.0
9	83.3
10	None

Each value represents the mean value of a duplicate determination.

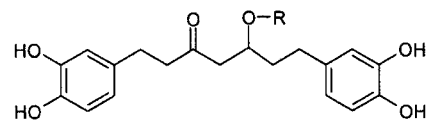


1 : Xyl <sup>3</sup>—<sup>1</sup> Glc

2 : Glc <sup>6</sup>—<sup>1</sup> Api

3 : Glucose

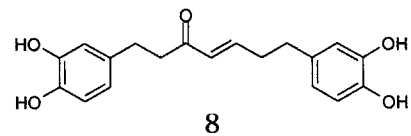
4 : H



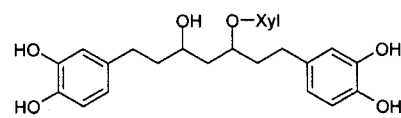
5 : Glucose

6 : Xylose

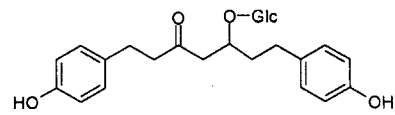
7 : H



8



9



10

**Scheme 1.** Structures of diarylheptanoids(1-10) compounds.

## 결 론

국내에 자생하는 대표적 *Alnus*속 식물인 오리나무(*A. japonica*)의 수피에서 분리된 10종의 diarylheptanoid에 대하여 항산화작용을 검색하고, 구조간의 활성관계를 조사한 결과 이들 diarylheptanoid는 DPPH radical에 대하여 일반적으로 우수한 항산화작용을 나타내었다. 특히 aglycone(4, 7 및 8) 형태의 효과가 우수하게 나타났으며 heptane moiety에 알콜형태만 존재하는 1,7-bis-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxyheptane(4) 및 탈수된 형태의 구조인 hirsutenone(8)은 L-ascorbic acid와 비슷하거나, 더 좋은 항산화작용을 나타내었다. 오리나무는 항산화작용이 뚜렷한 diarylheptanoid 화합물을 다량 함유하고 있어서 각종 성인병 질환에 응용할 수 있는 항산화제로 개발할 가치가 있다고 사료된다.

## 사 사

본 연구는 2001년 보건 의료 기술 연구 개발 사업(천연물신약 개발지원사업 01-JP2-PG3-21605-0011)의 지원에 의해서 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. 이우철(1996) 한국식물명고, 154, 아카데미서적, 서울.
2. (1985) 中藥大辭典 (3권), 3042, 小學館.
3. Lee, S. J. (1966) 40, Korean Folk Medicine, 서울.
4. Terazawa, M., Okuyama, H. and Miyake, M. (1974) Isolation of Hirsutanonol and Hirsutenone, Two new diarylheptanoids from the green bark of keyamahannoki, *Alnus hirsuta* Turcz, *Mokuzai gakkai*, **19**: 45-46.
5. Karches, J. J., Laever, M. L., Barofsky, D. F. and Barofsky, E. (1974) Structure of oregonin, a Natural Diarylheptanoid Xyloside. *J. C. S. Chem. Comm.*: 649-650.
6. Lee, M., W., Tanaka, T., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1992) Hirsunin, an ellagitannin with a diarylheptanoid moiety from *Alnus hitsuta* var. *microphylla*, *Phytochemistry*, **31**: 967-970.
7. Tori, M., Hashimoto, A., Hirose, K. and Asakawa, Y. (1995) Diarylheptanoids, flavonoids, stilbenoids, sesquiterpenoids and a phenanthrene from *Alnus maximowiczii*, *Phytochemistry*, **40**: 1263-1264.
8. Wada, H., Tachibana, H., Fuchino, H. and Tanaka, N. (1998) Three new diarylheptanoid glycosides from *Alnus japonica*, *Chem. Pharm. Bull.*, **46**: 1054-1055.
9. Gonzalez-Laredo, R. F., Chem, J., Karchesy, Y. M. and Karchesy, J. J. (1999) Four New Diarylheptanoid Glycosides from *Alnus Rubra* Bark, *Nat. Prod. Lett.*, **13**: 75.
10. Suga, T., Iwata, N. and Asakawa, Y. (1972), Chemical constituents of the male Flower of *Alnus pendula* (Betulaceae), *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **45**: 2058-2067.
11. Asakawa, Y. (1971) Chemical constituents of *Alnus sieboldiana* (Betulaceae) II. The isolation and structure of flavonoids and stilbenes, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **44**: 2761-2766.
12. Stikhin, V. A., Ban'kovskii, A. I., Glyzin, V. I. and Kir'yanova, I. A. (1974) Quercetin-3-sophoroside from *Alnus glutinosa* and *Fraxinus lanceolata* pollens, *Chem. Nat. Comp.*, **10**: 526.
13. Lee, M. W., Jeong, D. W., Lee, Y. A., Park, M. S. and Toh, S. H. (1999) Flavonoids from the Leaves of *Alnus hirsuta*, *Yakhak Hoeji*, **43**: 547-552.
14. Ahn, K. W., Toh, S. H., Jeong, D. W., Kim, J. S., Cho, S. M. and Lee, M. W. (2000) Flavonoids from the Leaves of *Alnus maximowiczii* Call, *Yakhak Hoeji*, **44**: 41-46.
15. Lee, M. W., Park, M. S., Jeong, D. W., Kim, K. H. and Toh, S. H. (2000) Diarylheptanoids from the Leaves of *Alnus hirsuta* Torcz, *Arch. Pharm. Res.*, **23**: 50-53.
16. Lee, M. W., Kim, N. Y., Park, M. S., Ahn, K. H., Toh, S. H., Hahn, D. R., Kim, Y. C. and Chung, H. T. (2000) Diarylheptanoids with *In vitro* Inducible Nitric Oxide Synthesis Inhibitory Activity from *Alnus hirsuta*, *Planta Med.*, **66**(6): 551-553.
17. Lee, M. W., Kim, J. H., Jeong, D. W., Ahn, K. H., Toh, S. H. and Surh, Y. J. (2000) Inhibition of Cyclooxygenase-2 Expression by Diarylheptanoids from the Bark of *Alnus hirsuta* var *sibirica* *Biol. Pharm. Bull.*, **23**(4): 517-518.
18. Lee, D. I., Chang, J. K., Lee, M. W. and Hong, S. G. (1998) Effects of Oregonin, diarylheptanoid derivative from plant on antitumor, *Chung-Ang J. Pharm. Sci.*, **12**: 50.
19. Lee, Y. A., Kim, K. H., Kim, J. S., Cho, S. M., Kim, S. W. and Lee, M. W. (2000) Antioxidative Effects of Diarylheptanoids from *Alnus hirsuta*, *Yakhak Hoeji*, **44**: 193-196.
20. Submitted.
21. Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., Yoshida, T. and Okuda, T. (1989), Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 2016.

(2003년 6월 2일 접수)