

수목추출물의 생리활성에 관한 연구(X)*¹

- 헛개나무 목부의 항균활성 물질 -

최윤정*² · 이학주*² · 이성숙*^{2†} · 최돈하*²

Studies on Biological Activity of Wood Extractives (X)*¹

- Antifungal Compounds of *Hovenia dulcis* -

Yun-Jeong Choi*² · Hak-Ju Lee*² · Sung-Suk Lee*² · Don-Ha Choi*²

요 약

항균활성이 우수한 헛개나무 목부 에탄올 조추출물로부터 7종의 화합물을 단리하였으며, 기기분석 결과 flavonoid인 5-hydroxy-7-methoxyflavone를 비롯하여 5,7-dihydroxyflavone (chrysin), 5,7-dihydroxyflavanone (pinocembrin), 3,5,7-trihydroxyflavanone (pinobanksin), 3,4',5,7-tetrahydroxyflavanone (aromadendrin)과 stilbenoid인 3-hydroxy-5-methoxystilbene과 3,5-dihydroxystilbene (pinosylvin)으로 각각 동정되었다. 이들 단리물질에 대한 항균활성을 조사한 결과 stilbenoid인 3-hydroxy-5-methoxystilbene이 공시균주의 생장을 완전히 저해하여 단리물질 중 활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 그 다음이 pinocembrin과 pinosylvin으로 *Cryphonectria parasitica*, *Trametes versicolor*, *Tyromyces palustris* 그리고 *Trichoderma viride*에 대해 높은 균사생장억제율을 나타내어 활성이 우수한 것으로 나타났다. 그러나, flavonoid인 pinobanksin, 5-hydroxy-7-methoxyflavone, chrysin, 그리고 aromadendrin은 항균활성이 낮은 것으로 나타났다. 이상의 결과, 헛개나무 목부 에탄올 조추출물의 높은 항균활성은 3-hydroxy-5-methoxystilbene과 pinocembrin, 그리고 pinosylvin에서 유래된 것으로 사료되었다.

ABSTRACT

Antimicrobial activities of plant extractives were investigated to develop a natural fungicide. Two stilbenoids and five flavonoids were isolated from wood extractives of *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae) which had been selected due to its high antifungal activity among the tested species. The chemical structures of isolated compounds were determined as : 5-hydroxy-7-methoxyflavone, 5,7-dihydroxy-

*¹ 접수 2002년 3월 22일, 채택 2002년 4월 22일

*² 입업연구원 화학미생물과 Div. Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

† 주저자(corresponding author) : 이성숙(e-mail: lsungsuk@foa.go.kr)

flavone (chrysin), 5,7-dihydroxyflavanone (pinocembrin), 3,5,7-trihydroxyflavanone (pinobanksin), 3,4,5,7-tetrahydroxyflavanone (aromadendrin), 3-hydroxy-5-methoxystilbene and 3,5-dihydroxystilbene (pinosylvin) on the basis of Mass and NMR spectroscopic data.

According to the results of antifungal test, 3-hydroxy-5-methoxystilbene was evaluated as the strongest antifungal compound among the tested compounds and next were pinocembrin and pinosylvin, but those also had high hyphal growth inhibition activities against *C. parasitica*, *T. versicolor*, *T. palustris* and *T. viride*. However, pinobanksin, 5-hydroxy-7-methoxyflavone, chrysin and aromadendrin showed very low antifungal activity. In this regard, it could be inferred that high antifungal activity of wood extractives of *H. dulcis* were derived from 3-hydroxy-5-methoxystilbene, pinocembrin and pinosylvin, respectively.

Keywords: *Hovenia dulcis*, Rhamnaceae, wood extractives, flavonoid, stilbenoid, antifungal activity

1. 서 론

갈매나무과에 속하는 헛개나무(*Hovenia dulcis*)는 낙엽활엽교목으로 우리나라 중부 이남의 표고 50~800 m에서 자라며 일본과 중국 등에도 분포한다. 목재는 건축재나 가구재, 약기재, 조각재 등 사용 용도가 다양하다. 특히, 과실은 지구자라 하여 이뇨, 숙취해소에, 수피는 소화불량에, 그리고 잎은 주독을 제거하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다(相賀, 1985). 이 수종의 추출성분에 관해서는 잎으로부터 단리한 dammarane glycoside 등이 항감미(antisweet) 활성이 있다는 보고(Yoshikawa 등, 1992; 1993)가 있으며, 종자와 열매로부터 단리된 triterpene glycoside가 histamine의 유리(遊離)(Yoshikawa 등, 1996)를, 그리고 dihydroflavonol이 알콜에 의한 근육이완(Yoshikawa 등, 1997)을 억제한다는 보고가 있다. 그러나 목부의 추출성분에 대한 연구는 미미한 실정으로, 본 연구에서는 항균활성이 우수하다는 결과(임업연구원, 2000)를 바탕으로 헛개나무 목부로부터 항균물질을 단리하고 그 화학구조를 동정하였으며 단리물질의 항균활성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

공시목으로는 1996년 2월 임업연구원 홍릉수목원

에서 채취한 수령 30년생(흉고 직경 : 28 cm)의 헛개나무를 박피한 후 목부를 분쇄기로 분쇄한 목분을 실온에서 95% 에탄올로 72시간 침적시켜 3회 추출한 액을 회전 농축기로 농축하여 사용하였다.

2.2. 공시균주

항균활성용 공시균으로서는 식물병원균인 *Glomerella cingulata*(탄저병균), *Fusarium oxysporium*(채소류 시들음병균), *Cryphonectria parasitica*(밤나무 동고병균), 목재부후균인 *Trametes versicolor*(백색부후균), *Tyromyces palustris*(갈색부후균)를, 그리고 표고해균인 *Trichoderma viride*(표면오염균)를 사용하였다.

2.3. 추출 및 분획

헛개나무 목부 에탄올 조추출물을 헥산(*n*-hexane), 디클로로메탄(dichloromethane, CH₂Cl₂), 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc) 및 부탄올(butanol, BuOH) 등의 용매를 사용하여 순차추출하여 용매분획하였다. 이 중 CH₂Cl₂ 가용부(30 g)를 메탄올(methanol, MeOH)을 용출용매로 한 Sephadex LH-20 컬럼(85.0×5.5 cm) 크로마토그래피로 50 mL 씩 용출시켜 75개로 분취하였다. 각 분취물은 박층크로마토그래프(TLC : silica gel 60 F₂₅₄, 전개용매 toluene-ethyl formate-formic acid = 5:4:1, v/v/v) 상에서 UV(254 nm)로 검색하여 3개의 분획물(HD-

1~HD-3)로 나누었다.

2.4. 항균활성검정

항균활성검정은 배지점적법을 전보(이 등, 2000b)에 따라 행하였다.

2.5. 기기분석

단리된 화합물의 구조동정을 위하여 질량(EI-MS) 스펙트럼은 JEOL JMS-600W Mass Spectrometer를 사용하였고, 핵자기공명(NMR) 스펙트럼은 단리한 화합물들을 chloroform- d_3 , acetone- d_6 , methanol- d_4 에 용해시켜 한국기초과학지원연구원 서울 분소의 Bruker AMX-500으로 측정하였다.

2.6. 각 성분의 성상

2.6.1. 화합물 I (5-hydroxy-7-methoxyflavone)

위의 HD-2의 분획물(3.85 g)을 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피(컬럼 : 85×4.5 cm, 용출용매 : MeOH-EtOH (3:7, v/v), 용출량 : 17 mL)하여 100개로 분취한 후, UV로 검색하여 4개의 분획물(HD-2-1~HD-2-4)로 나누었으며, 이 중 HD-2-1의 분획물로부터 노란색 침상 결정의 화합물 I (46 mg)을 단리하였다.

화합물 I의 EI-MS m/z : 268 (M^+ , base ion), 239, 193, 166, 120. 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) : δ 3.88 (3H, *s*, OCH_3), 6.37 (1H, *d*, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.49 (1H, *d*, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.66 (1H, *s*, H-3), 7.50~7.55 (3H, *m*, H-3', 4', 5'), 7.87~7.89 (2H, *m*, H-2', 6'), 12.71 (1H, *s*, OH). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) : δ 55.82 (*q*, OCH_3 -7), 92.69 (*d*, C-8), 98.20 (*d*, C-6), 105.73 (*s*, C-10), 105.89 (*d*, C-3), 126.30 (*d*, C-2', 6'), 129.09 (*d*, C-3', 5'), 131.34 (*s*, C-1'), 131.83 (*d*, C-4'), 157.81 (*s*, C-9), 162.22 (*s*, C-5), 163.99 (*s*, C-2), 165.62 (*s*, C-7), 182.50 (*s*, C-4). HMBC correlations : $OCH_3 \rightarrow C-7$,

H-6→C-5/C-8/C-10, H-8→C-6/C-7/C-9/C-10, H-3→C-1'/C-2/C-4/C-10, H-2'/H-6'→C-2/C-4', H-3'/H-4'/H-5'→C-2'/H-6', OH→C-5/C-6/C-10.

2.6.2. 화합물 II (chrysin)

위의 HD-2의 4개의 분획물 중 HD-2-2로부터 노란색 분말상의 화합물 II (90.6 mg)를 단리하였다.

화합물 II의 EI-MS m/z : 254 (M^+ , base ion), 226, 179, 152, 149, 124, 69. 1H -NMR (500 MHz, $(CD_3)_2CO$) : δ 6.23 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.53 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.95 (1H, *s*, H-3), 7.56~7.64 (3H, *m*, H-3', 4', 5'), 8.06~8.07 (2H, *m*, H-2', 6'), 12.82 (1H, *s*, OH-5). ^{13}C -NMR (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) : δ 94.07 (*d*, C-8), 98.95 (*d*, C-6), 103.86 (*s*, C-10), 105.05 (*d*, C-3), 126.31 (*d*, C-2', 6'), 129.07 (*d*, C-3', 5'), 130.59 (*s*, C-1'), 131.96 (*d*, C-4'), 157.39 (*s*, C-9), 161.35 (*s*, C-5), 163.13 (*s*, C-2), 164.39 (*s*, C-7), 181.78 (*s*, C-4). HMBC correlations : H-6→C-5/C-7/C-8/C-10, H-8→C-6/C-7/C-9/C-10, H-3→C-1'/C-2/C-4/C-10, H-2'/6'→C-2/C-4', H-3'/H-4'/H-5'→C-1'/C-2'/C-6', OH-5→C-5/C-6/C-10.

2.6.3. 화합물 III (3-hydroxy-5-methoxystilbene)

위의 HD-2-2의 분획물(2.30 g)을 silica gel 컬럼 크로마토그래피(컬럼 : 61.5×3.0 cm, 용출용매 : hexane-acetone (20 : 1, v/v), 용출량 16.5 mL)하여 1175개로 분취한 후, UV로 검색하여 4개의 분획물(HD-2-2-1~HD-2-2-4)을 얻었으며, 이 중 HD-2-2-1의 분획물로부터 화합물 III (867.8 mg)을 단리하였다.

화합물 III의 EI-MS m/z : 226 (M^+ , base ion), 211, 194, 165, 152, 141, 113. 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) : δ 3.79 (3H, *s*, OCH_3), 6.30 (1H, *t*, $J = 2.2$ Hz, H-4), 6.61 (2H, *t*, $J = 2.2$ Hz, H-2, 6), 7.04 (1H, *d*, $J = 16.2$ Hz, H-7), 7.10 (1H, *d*, $J = 16.2$ Hz, H-8), 7.23 (1H, *t*, $J = 7.5$ Hz, H-4'), 7.34 (2H, *t*, $J = 7.5$ Hz, H-3', 5'), 7.52 (2H, *d*, $J = 7.5$ Hz, H-2', 6'). ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD)

: δ 55.70 (*q*, OCH₃-5), 101.96 (*d*, C-4), 104.75 (*d*, C-6), 107.03 (*d*, C-2), 127.55 (*d*, C-2', 6'), 128.61 (*s*, C-4'), 129.70 (*d*, C-3', 5'), 129.80 (*d*, C-7), 129.86 (*d*, C-8), 138.77 (*s*, C-1'), 140.82 (*s*, C-1), 159.81 (*s*, C-3), 162.60 (*s*, C-5). HMBC correlations : OCH₃→C-5, H-4→C-2/C-3/C-5, H-2/H-6→C-2/C-3/C-4/C-5/C-6, H-7→C-1', H-8→C-1, H-3'/H-5'→C-1'. NOESY correlations : H-2/H-6↔H-7, H-8↔H-2'/H-6', H-4'↔H-3'/H-5', H-3'/H-5'↔H-2'/H-6'.

2.6.4. 화합물IV(pinocembrin)

위의 HD-2-2-2의 분획물로부터 화합물IV(206.2 mg)을 단리하였다.

화합물IV의 EI-MS m/z : 256 (M⁺, base ion), 226, 179, 152, 124, 104. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 2.75 (1H, *dd*, $J = 3.5, 17.0$ Hz, H-3eq), 3.07 (1H, *dd*, $J = 12.5, 17.0$ Hz, H-3ax), 5.44 (1H, *dd*, $J = 3.5, 12.5$ Hz, H-2), 5.91 (1H, *d*, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.94 (1H, *d*, $J = 2.2$ Hz, H-8), 7.37~7.43 (3H, *m*, H-3', 4', 5'), 7.48~7.50 (2H, *m*, H-2', 6'). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 44.19 (*d*, C-3), 80.45 (*d*, C-2), 96.27 (*d*, C-8), 97.23 (*d*, C-6), 103.41 (*s*, C-10), 127.36 (*d*, C-2', 6'), 129.65 (*s*, C-4'), 129.72 (*d*, C-3', 5'), 140.42 (*s*, C-1'), 164.67 (*s*, C-9), 165.50 (*s*, C-5), 168.43 (*s*, C-7), 197.31 (*s*, C-4). HMBC correlations : H-3eq→C-4/C-10, H-3ax→C-1'/C-2/C-4, H-2→C-1'/C-2'/C-6', H-6→C-5/C-7/C-8/C-10, H-8→C-6/C-7/C-9/C-10, H-3'/H-4'/H-5'→C-1'/C-2'/6'/C-3'/C-5', H-2'/H-6'→C-2/C-2'/6'/C-3'/C-4'/C-5'. NOESY correlations : H-2↔H-3eq/H-3ax, H-2'/H-6'↔C-3ax/H-2.

2.6.5. 화합물 V (pinobanksin)

위의 HD-2-2-4의 분획물(348 mg)을 silica gel 컬럼 크로마토그래피(컬럼 : 53.0×2.5 cm, 용출용매 : benzene-MeOH (80 : 1, v/v), 용출량 : 2.5 mL)하여

100개로 분취한 후, UV로 검색하여 3개의 분획물(HD-2-2-4-1~HD-2-2-4-3)로 나누었으며 이 중 HD-2-2-4-3의 분획물로부터 화합물V(21.9 mg)를 단리하였다.

화합물V의 EI-MS m/z : 272 (M⁺), 243 (base ion), 165, 153, 148, 120. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 4.55 (1H, *d*, $J = 11.5$ Hz, H-3), 5.08 (1H, *d*, $J = 11.5$ Hz, H-2), 5.92 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-8), 5.95 (1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-6), 7.04~7.44 (3H, *m*, H-3', 4', 5'), 7.54 (2H, *m*, H-2', 6'). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 73.74 (*d*, C-3), 85.06 (*d*, C-2), 96.38 (*d*, C-8), 97.48 (*d*, C-6), 101.87 (*s*, C-10), 128.95 (*d*, C-2', 6'), 129.44 (*d*, C-3', 5'), 138.57 (*s*, C-4'), 138.57 (*s*, C-1'), 164.39 (*s*, C-9), 165.32 (*s*, C-5), 168.76 (*s*, C-7), 198.24 (*s*, C-4). HMBC correlations : H-3→C-1'/C-2/C-4, H-2→C-1'/C-2'/C-3/C-4/C-6', H-8→C-6/C-7/C-9/C-10, H-6→C-8/C-10, H-2'/6'→C-1'/C-2/C-3'/4'/5', H-3'/H-4'/H-5'→C-1'/C-2'/C-6'. NOESY correlations : H-3↔H-2/H-2'/H-6', H-2↔H-3/H-2'/H-6', H-2'/H-6'↔H-3'/H-4'/H-5'.

2.6.6. 화합물VI(pinosylvin)

위의 HD-2-3의 분획물(200.9 mg)을 silica gel 컬럼 크로마토그래피(컬럼 : 57.0×2.5 cm, 용출용매 : CHCl₃-MeOH (30 : 1, v/v), 용출량 : 2.5 mL)하여 360개로 분취한 후, UV로 검색하여 4개의 분획물(HD-2-3-1~HD-2-3-4)로 나누었으며 이 중 HD-2-3-2 분획물로부터 화합물VI(8.9 mg)을 단리하였다.

화합물VI의 EI-MS m/z : 212 (M⁺), 179, 166, 153, 120, 107, 91, 69. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 6.21(1H, *t*, $J = 2.0$ Hz, H-4), 6.51 (2H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-2, 6), 7.00 (1H, *d*, $J = 16.5$ Hz, H-7), 7.05 (1H, *d*, $J = 16.5$ Hz, H-8), 7.23 (1H, *m*, H-4'), 7.34 (2H, *m*, H-3', 5'), 7.51 (2H, *m*, H-2', 6'). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 103.24 (*d*, C-4), 106.14 (*d*, C-2, 6), 127.51 (*d*, C-2', 6'), 128.56 (*d*, C-4'), 129.51 (*d*, C-8), 129.72 (*d*, C-3', 5'), 129.97 (*d*, C-7), 138.84 (*s*, C-1'), 140.81 (*s*,

C-1), 159.78 (s, C-3, 5). HMBC correlations : H-4 → C-2/C-3/C-5/C-6, H-2/H-6 → C-3/C-4/C-5, H-7 → C-1/C-2/C-6/C-8, H-8 → C-1/C-7. NOESY correlations : H-2/H-6 ↔ H-7, H-8 ↔ C-2'/C-6', H-3'/H-5' ↔ H-2'/H-6'/H-4'.

2.6.7. 화합물VII(aromadendrin)

위의 HD-2-3-4 분획물로부터 화합물VII(8.3 mg)를 단리하였다.

화합물VII의 EI-MS m/z : 288 (M^+), 270, 259, 165, 153 (base ion), 134, 107. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) : δ 4.55 (1H, d , $J = 11.5$ Hz, H-3), 4.99 (1H, d , $J = 11.5$ Hz, H-2), 5.89 (1H, d , $J = 2.0$ Hz, H-8), 5.93 (1H, d , $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.84 (2H, dd , d , $J = 2.5, 9.0$ Hz, H-3', 5'), 7.36 (2H, d , $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) : δ 73.64 (d , C-3), 84.98 (d , C-2), 96.34 (d , C-8), 97.38 (d , C-6), 101.82 (s, C-10), 116.15 (d , C-3', 5'), 129.31 (s, C-1'), 130.38 (d , C-2', 6'), 159.23 (s, C-4'), 164.55 (s, C-9), 165.34 (s, C-5), 168.87 (s, C-7), 198.47 (s, C-4). HMBC correlations : H-3 → C-1'/C-2/C-4, H-2 → C-1'/C-2'/C-3/C-4/C-6', H-8 → C-6/C-7/C-9/C-10, H-6 → C-5/C-7/C-8/C-10, H-2'/H-6' → C-4', H-3'/H-5' → C-1'/C-4'. NOESY correlations : H-2 ↔ H-3/H-2'/H-6', H-2'/H-6' ↔ H-3'/H-5'.

3. 결과 및 고찰

3.1. 단리물질의 화학구조

3.1.1. 화합물 I

화합물 I 은 EI-MS 스펙트럼에서 m/z 268 (M^+)의 분자이온 피크를 나타내었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 3.88 ppm의 1개의 singlet는 methoxy기에서 기인하며, 또한 7.50~7.89 ppm 사이의 multiplet의 signal은 적분곡선의 강도로부터 5개의 방향핵 proton이 존재함을 나타내었다. 또한 DEPT법에 의한 화합물 I

의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 methoxy기를 제외한 총 15개의 signal이 확인되며 이 중 8개의 3급 탄소와 7개의 4급 탄소가 있음을 확인할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ COSY 스펙트럼은 방향핵내의 H-6위(6.37 ppm, 1H, d , $J = 2.1$ Hz)와 H-8위(6.49 ppm, 1H, d , $J = 2.1$ Hz,) proton이 상관관계에 있으며, 이들의 결합정수로부터 H-6위, H-8위의 proton이 서로 *meta*결합을 하고 있음을 나타내고 있다. 또한 HMBC 스펙트럼을 통해 12.71 ppm(1H, s, OH)의 hydroxy proton과 화합물 I의 C-5위, C-6위, C-10위 탄소와 교차피크를 확인함으로써 hydroxy기가 C-5위 탄소에 결합한 화합물임을 알 수 있었다. 이상의 결과 화합물 I은 5-hydroxy-7-methoxyflavone로 동정하였다.

3.1.2. 화합물 II

화합물 II는 EI-MS 스펙트럼에서 분자이온 피크 m/z 254 (M^+)를 나타내었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 나타나는 6.95 ppm 한 개의 singlet signal은 HMBC 스펙트럼에서 C-1'(130.59 ppm), C-2(163.13 ppm), C-4(181.78 ppm), C-10(103.86 ppm) 탄소와 교차피크를 나타내므로 heterocyclic 부분구조의 H-3위에 귀속하였다. 그리고 II의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼은 DEPT, HMQC, HMBC 스펙트럼을 확인하여 각각의 signal을 귀속한 결과, 화합물 II은 5,7-dihydroxyflavone인 chrysin으로 동정되었다.

3.1.3. 화합물 III

화합물 III의 EI-MS 스펙트럼에서 분자이온 피크 m/z 226 (M^+)를 나타내었다. 화합물 III의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서는 전형적인 stilbenoid 구조에서 볼 수 있는 7.04 ppm(1H, d , $J = 16.2$ Hz, H-7)과 7.10 ppm(1H, d , $J = 16.2$ Hz, H-8)의 두개의 doublet signal이 나타났으며, 이들의 결합정수가 $J = 16.2$ Hz로 이 두 proton은 서로 *trans* 형태로 존재한다는 사실을 보여주었으며, 6.30 ppm(1H, t , $J = 2.2$ Hz, H-4)과 6.61 ppm(1H, t , $J = 2.2$ Hz, H-2, 6) 사이의 3개의 triplet signal은 1, 3, 5-3치환 벤젠핵의 존재를 나타내고 있었다. 또한 3.79 ppm에서 1개의 methoxy기 proton signal을 볼 수 있었다. 이 signal

은 HMBC 스펙트럼에서 C-5위의 탄소와 교차피크를 보임으로써 C-5위 탄소가 결합되어 있음을 나타내었다. 화합물Ⅲ의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 나타나는 101.96 ppm, 104.75 ppm, 107.03 ppm의 탄소는 각각 C-4위, C-6위, C-2위 탄소로부터 유래하며 저자장 측의 탄소는 C-3위와 C-5위에 귀속하였다. stilbenoid구조에서 나타나는 H-7, H-8의 proton이 벤젠 핵 영역의 H-2/6위와 H-2'/6'위와의 상관피크를 보임으로써 공간적으로 서로 가까이 있다는 것이 NOESY 스펙트럼에서 확인되었다. 이상의 결과로부터 화합물Ⅲ은 3-hydroxy-5-methoxystilbene인 것으로 동정되었다.

3.1.4. 화합물Ⅳ

화합물Ⅳ는 EI-MS에서 분자이온 피크 m/z 256 $(\text{M})^+$ 을 나타내었으며 5.44 ppm(1H, *dd*, $J = 3.5, 12.5$ Hz)의 double doublet signal은 heterocyclic 부분구조의 H-2위, 그리고 3.07 ppm(1H, *dd*, $J = 12.5, 17.0$ Hz, H-3ax)과 2.75 ppm(1H, *dd*, $J = 3.5, 17.0$ Hz, H-3eq) 두개의 double doublet signal은 그 결합정수로부터 H-3위의 equatorial 및 axial proton으로 각각 귀속하였다. 화합물Ⅳ의 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 스펙트럼에서 서로 가까이 있는 H-2위의 proton과 H-3위의 proton 사이의 상관피크와 H-3위의 axial과 equatorial proton의 상관피크를 볼 수 있었다. 또한 H-2'/6'의 proton, H-2위 proton과 H-3위의 axial proton이 NOESY 스펙트럼을 통하여 상관피크를 보임으로써 H-2위 proton과 H-3위의 axial proton이 공간상 가까이 있음을 알 수 있었다. 화합물Ⅳ의 HMBC 스펙트럼에서는 H-3위의 equatorial proton과 C-1'위 탄소간의 교차피크가 나타나 있고, H-3위 axial proton과 C-10위 탄소의 교차피크가 나타나 있다. 이상의 결과, 화합물Ⅳ는 산벚나무로부터도 분리되었던(이 등, 2001) 5,7-dihydroxyflavanone인 pinocembrin으로 동정되었다.

3.1.5. 화합물Ⅴ

화합물Ⅴ는 EI-MS 스펙트럼에서 분자이온 피크

m/z 243 $(\text{M})^+$ 를 나타내었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 4.55 ppm(1H, *d*, $J = 11.5$ Hz, H-3)과 5.08 ppm(1H, *d*, $J = 11.5$ Hz, H-2) 두개의 doublet signal은 heterocyclic 부분구조의 H-3위와 H-2위의 proton에 귀속하였다. 5.92 ppm(1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-8)과 5.95 ppm(1H, *d*, $J = 2.0$ Hz, H-6) 두개의 doublet signal은 meta결합에 기인하는 것으로 H-8위, H-6위 proton에 귀속하였으며, H-8위의 proton은 HMBC 스펙트럼에서 C-9위, C-7위 탄소와의 교차피크를 확인할 수 있었다. 7.04~7.44 ppm에서 나타나는 multiple signal은 H-3', 4', 5' proton, 7.50 ppm의 multiple signal은 H-2', 6' proton으로 귀속하였다. 화합물Ⅴ의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 198.24 ppm의 signal은 카보닐기에서 유래한 C-4위 탄소, 101.87 ppm과 164.39 ppm의 signal은 4급 탄소인 C-10, C-9위에 귀속하였다. 이상의 결과 화합물Ⅴ는 3,5,7-trihydroxyflavanone인 pinobanksin으로 동정하였다.

3.1.6. 화합물Ⅵ

화합물Ⅵ의 분자량은 EI-MS 스펙트럼에서 m/z 212 $(\text{M})^+$ 를 나타내었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 화합물Ⅲ과 유사한 stilbenoid구조의 7.00 ppm(1H, *d*, $J = 16.5$ Hz, H-7)과 7.05 ppm(1H, *d*, $J = 16.5$ Hz, H-8) 2개의 doublet signal을 나타내었다. 103.24 (C-4), 106.14(C-2, 6) ppm의 3개 signal은 1, 3, 5-3 치환 벤젠핵의 C-2, C-6, C-4위 탄소에 귀속하였으며 NOESY 스펙트럼에서 H-7 proton(1H, *d*, $J = 16.5$ Hz)은 H-2/6위 proton과 H-8 proton(1H, *d*, $J = 16.5$ Hz)은 H-2'/6' proton과 서로 상관관계에 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과 화합물Ⅵ은 3,5-dihydroxystilben인 pinosylvin으로 동정하였다.

3.1.7. 화합물Ⅶ

화합물Ⅶ의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 4.55 ppm(1H, *d*, $J = 11.5$ Hz)과 4.99 ppm(1H, *d*, $J = 11.5$ Hz) 두개의 doublet signal은 H-3위와 H-2위 proton에 귀속하였으며, 5.89 ppm(1H, *d*, $J = 2.0$ Hz)과 5.93 ppm(1H, *d*, $J = 2.0$ Hz) 두개의 doublet signal은

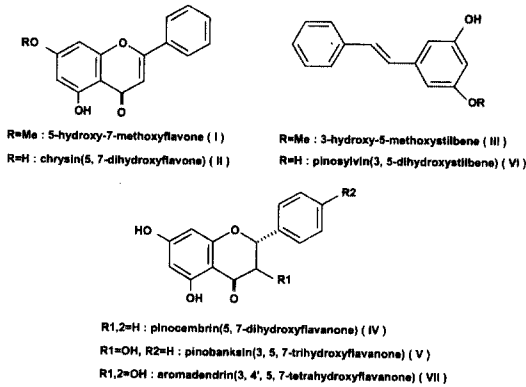


Fig. 1. Compounds isolated from heartwood of *Hovenia dulcis*.

H-8위와 H-6위에 귀속하였다. 6.84 ppm(2H, dd, $d, J = 2.5, 9.0$ Hz)과 7.36 ppm(2H, d, $J = 9.0$ Hz)의 double doublet signal은 각각 H-3'/5', H-2'/6'위에 귀속하였으며 1', 4'-2치환 벤젠핵의 존재를 나타내고 있었다. 화합물VII의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 화합물IV, V와 유사한 signal을 보이며 15개의 탄소 피크를 나타내었다. 각 signal은 73.64 ppm C-3, 84.98 ppm C-2, 96.34 ppm C-8, 97.38 ppm C-6, 101.82 ppm C-10, 116.15 ppm C-3'/5', 129.31 ppm C-1', 130.38 ppm C-2'/6', 159.23 ppm C-4', 164.55 ppm C-9, 165.34 ppm C-5, 168.87 ppm C-7, 198.47 ppm C-4로 각각 귀속하였다. 4.99 ppm의 H-2위 proton은 H-3위 proton과 H-2'/6' proton과의 상관 피크를 나타냄으로써 근접하고 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과, 화합물VII은 일본잎갈나무에서도 단리

되었던(윤 등, 2000) 4',5,7-trihydroxyflavanone인 aromadendrin으로 동정되었다.

3.2. 단리물질의 항균활성

헛개나무 목부로부터 단리한 화합물 I (5-hydroxy-7-methoxyflavone), II (chrysin), III(3-hydroxy-5-methoxystilbene), IV(pinocembrin), V(pinobanksin), VI(pinosylvin) 및 VII(aromadendrin)의 항균활성을 조사하였다. 그 결과, 가장 수율이 높았던 3-hydroxy-5-methoxystilbene의 경우 밤나무 동고병 균인 *C. parasitica*, 갈색부후균인 *T. palustris*, 표면 오염균인 *T. viride*의 균사생장을 완전히 저해하는 것으로 나타났다(Table 1). 또한, 채소류 시들음병균인 *F. oxysporium*과 탄저병균인 *G. cingulata*에 대해서도 각각 81.0%와 61.9%의 균사생장억제율을 나타내어 활성이 매우 우수한 것으로 나타났다(Table 1). 그리고 3-hydroxy-5-methoxystilbene과 같은 stilbenoid 구조이나 C환의 5위에 methoxyl기 대신 hydroxyl기를 가지고 있는 pinosylvin은 *C. parasitica*, *T. palustris*, *T. viride*의 생장을 완전히 저해하였으나 *G. cingulata*와 *F. oxysporium*에 대한 생장억제율은 각각 32.1%와 34.5%로 나타냄으로써(Table 1), C-5에 methoxyl기 대신 hydroxyl기가 치환됨에 따라 활성이 낮아짐을 알 수 있었다. 이러한 pinosylvin의 높은 항균활성은 이 등(2000a)이 stilbenoid를 합성하여 항균활성을 검정한 결과와도 일치하였다.

단리물질 중 flavonoid 화합물인 pinocembrin의 경

Table 1. Antifungal activities of isolated compounds from wood extractives of *H. dulcis*

Compound	Hyphal growth inhibition ratio (%)					
	<i>G. cingulata</i>	<i>F. oxysporium</i>	<i>C. parasitica</i>	<i>T. versicolor</i>	<i>T. palustris</i>	<i>T. viride</i>
5-Hydroxy-7-methoxyflavone ¹⁾	33.3	25.0	10.7	15.5	19.0	25.0
Chrysin	7.1	0	7.1	0	0	14.2
3-Hydroxy-5-methoxystilbene	61.9	81.0	100	46.4	100	100
Pinosylvin	32.1	34.5	100	40.5	100	100
Pinocembrin	14.2	25.0	82.1	100	100	100
Pinobanksin	31.0	28.6	57.1	20.2	19.4	28.6
Aromadendrin	20.2	16.6	39.3	14.3	7.1	17.9

¹⁾ 100 $\mu\text{g/mL}$ of each compounds was added.

우에는 *T. versicolor*, *T. palustris*, *T. viride*의 균사 생장을 완전히 저해하는 것으로 나타났으며 밤나무 동고병균인 *C. parasitica*는 82.1%의 균사생장을 억제하여 활성이 우수한 것으로 나타났다(Table 1). 그러나 pinocembrin과 같은 flavanone 구조이면서 C환의 3위에 수산기가 붙어 있는 pinobanksin의 경우에는 밤나무 동고병균인 *C. parasitica*의 생장을 57.1% 억제하였을 뿐 그 외의 공시균주에 대해서는 31%이하의 균사생장을 나타내(Table 1). 같은 flavanone 구조의 경우에도 C환 3위의 수산기 유무에 따라 활성에 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한, C환 3위와 B환 4'위에 수산기가 붙어있는 aromadendrin의 경우에도 모든 공시균에 대한 생장억제율이 낮아 활성이 낮은 것으로 판단되었다(Table 1). Flavone구조인 5-hydroxy-7-methoxyflavone의 경우에는 모든 공시균주에 대하여 10~35%의 생장억제율을 나타내어 활성이 낮았으며(Table 1). 같은 Flavone구조인 chrysin도 15% 이하의 낮은 억제율을 나타내어 활성이 없는 것으로 판단되었다(Table 1).

이상의 결과, 헛개나무 목부 에탄올 조추출물의 높은 항균활성의 원인 물질은 3-hydroxy-5-methoxystilbene과 pinocembrin, 그리고 pinosylvin인 것으로 사료되었다.

4. 결 론

항균활성이 우수한 헛개나무 목부 에탄올 조추출물로부터 Sephadex LH-20 및 silica gel 컬럼 크로마토그래피의 방법을 이용하여 7종의 화합물을 단리하였으며, 기기분석 결과 구조는 flavonoid인 5-hydroxy-7-methoxyflavone를 비롯하여 5,7-dihydroxyflavone (chrysin), 5,7-dihydroxyflavanone (pinocembrin), 3,5,7-trihydroxyflavanone (pinobanksin), 3,4',5,7-tetrahydroxyflavanone (aromadendrin)과 stilbenoid인 3-hydroxy-5-methoxystilbene, 그리고 3,5-dihydroxystilbene (pinosylvin)으로 각각 동정하였다. 이들 단리물질에 대한 항균활성을 조사한 결과 stilbenoid 구조인 3-hydroxy-5-methoxystilbene이 공시균주의 생장을 완전히 저해하여 활성

이 가장 높은 것으로 나타났다. 그 다음이 pinocembrin과 pinosylvin으로 *C. parasitica*, *T. versicolor*, *T. palustris*, *T. viride*에 대해 높은 균사생장억제율을 나타내어 활성이 우수한 것으로 나타났다. 그러나, pinobanksin, 5-hydroxy-7-methoxyflavone, chrysin, 그리고 aromadendrin의 경우는 항균활성이 낮은 것으로 나타났다. 이상의 결과, 헛개나무 목부 에탄올 조추출물의 높은 항균활성의 원인 물질은 3-hydroxy-5-methoxystilbene과 pinocembrin, 그리고 pinosylvin인 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. 윤순영, 이학주, 이성숙, 최돈하, 백기현. 2000. 수목 추출 성분의 생리활성에 관한 연구 (V) -일본잎갈나무 심재부의 플라보노이드 성분분리 및 항산화 활성. 목재공학 28(3): 78~84.
2. 이성숙, 이학주, 최돈하, 菱山正二郎, 加藤 厚. 2000a. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구 (IV) -산뿔나무 심재추출성분과 유연 합성 stilbenoid의 항균 및 항산화 활성. 목재공학 28(3): 70~77.
3. 이성숙, 최돈하, 이학주, 강하영. 2000b. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구 (II) -느티나무의 항균 및 항산화 물질. 목재공학 28(2): 32~41.
4. 이학주, 이성숙, 최돈하, 加藤 厚. 2001. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구 (VI) -산뿔나무 심재의 Flavonoids. 목재공학 29(2): 133~139.
5. 임업연구원. 2000. 환경친화성생물농약개발. 2000년도 임업연구사업보고서 (5-I) pp. 362~369.
6. Yoshikawa K., S. Tumura, M. K. Yamada, and S. Arihara. 1992. Antisweet natural products. VII. Hodulosides I, II, III, IV and V from leaves of *Hovenia dulcis* Thunb. *Chem. Pharm. Bull.* 40(9): 2287~2291.
7. Yoshikawa K., Y. Nagai, M. Yoshida, and S. Arihara. 1993a. Antisweet natural products. VIII. Structures of hodulosides VI-X from *Hovenia dulcis* Thunb. var. tomentella Makino. *Chem. Pharm. Bull.* 41(10): 1722~1725.
8. Yoshikawa M., T. Murakami, T. Ueda, H. Matsuda, J. Yamahara, and N. Murakami. 1996. Bioactive saponins and glycosides. IV. Four methyl-

- migrated 16,17-seco-dammarane triterpene glycosides from Chinese natural medicine, hoveniae semen seu fructus, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* THUNB: absolute stereostructures and inhibitory activity on histamine release of hovenidulciosides A1, A2, B1, and B2. *Chem. Pharm. Bull.* 44(9): 1736~1743.
9. Yoshikawa M, T. Murakami, T. Ueda, S. Yoshizumi, K. Ninomiya, N. Murakami, H. Matsuda, M. Saito, W. Fujii. T. Tanaka, and J. Yamahara. 1997. Bioactive constituents of natural medicines. III. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, hovenitins I, II, and III, isolated from hoveniae semen seu fructus, the seed and fruit of *Hovenia dulcis* THUNB. (Rhamnaceae): inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity. *Yakugaku Zasshi* 117(2): 108~118.
10. 相賀徹夫. 1985. 中藥大辭典. 小學館. pp. 414~415.