

## 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(XII)\*<sup>1</sup> - 산벚나무 심재 추출성분의 항균 및 항산화활성(2) -

이 학 주\*<sup>2†</sup> · 이 성 숙\*<sup>2</sup> · 최 돈 하\*<sup>2</sup>

## Studies on Biological Activity of Wood Extractives(XII)\*<sup>1</sup> - Antimicrobial and Antioxidative Activities of Extractives from the Heartwood of *Prunus Sargentii* (2) -

Hak-Ju Lee\*<sup>2†</sup> · Sung-Suk Lee\*<sup>2</sup> · Don-Ha Choi\*<sup>2</sup>

### 요 약

전보에 이어 산벚나무(*P. sargentii*) 심재 에탄올 추출물로부터 4개의 페놀성 화합물을 분리하였으며 기기분석 결과, isoflavone인 prunetin를 비롯하여 flavanone인 angophorol, sakuranetin 그리고 flavanone 배당체인 isosakuranin 으로 각각 동정하였다. 그러나 이들의 항균 및 항산화 활성을 조사한 결과 활성이 낮아 산벚나무 에탄올 조추출물의 높은 항균 및 항산화 활성은 이들 분리물질과는 무관한 것으로 사료되었다.

### ABSTRACT

Four flavonoids were isolated from the heartwood of *Prunus sargentii*. The structures were identified by NMR spectroscopic analysis: prunetin as isoflavone, angophorol, and sakuranetin as flavanone, and isosakuranin as flavanone glycoside. However, these compounds indicated low antifungal and antioxidative activities. In this regard, it could suggest that high antifungal and antioxidative activities of extractives of *P. sargentii* have no relationship with these compounds.

**Keywords:** *Prunus sargentii*, Rosaceae, heartwood, prunetin, angophorol, sakuranetin, isosakuranin

\*<sup>1</sup> 접수 2002년 8월 26일, 채택 2002년 9월 13일

\*<sup>2</sup> 임업연구원 화학미생물과 Div. Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

† 주저자(corresponding author) : 이학주(e-mail: hakju99@hanmail.net)

## 1. 서 론

오래전부터 수목에서 유래되는 추출성분들은 염료, 의약품 등으로 우리 일상생활에 이용되어 왔으며, 최근에는 합성약제의 안전성이 문제시되면서 천연물에 대한 관심이 더욱 높아지고 있는 실정이다. 또한 물질의 분리·정제 및 분석기술의 진보와 더불어 새로운 성분이 계속 밝혀지고, 기지물질에 대해서도 새로운 생리활성 등이 알려지면서 추출성분에 대한 연구가 더욱 활발하게 진행되고 있다. 이러한 상황에서 본 연구실에서는 수목 추출물의 생리활성을 구명할 목적으로 국내산 수목 추출물의 항균 및 항산화 활성을 검정한 결과(이 등, 1999), 활성이 우수한 것으로 나타난 산벚나무 심재로부터 6개의 후라보노이드 화합물을 단리(이 등, 2001b), 이들 물질들에 대한 항균 및 항산화 활성을 조사하여 보고한 바 있다(이 등, 2001a). 본 연구는 전보(이 등, 2001b)에 이어 산벚나무 심재 추출물로부터 단리된 화합물의 화학구조를 밝히고 이들의 활성을 조사하고자 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

공시수종으로는 1996년 5월 강원도 가리왕산에서 채취한 산벚나무(수령 27년, 흉고직경 30 cm)를 사용하였다.

### 2.2. 공시균주

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

### 2.3. 생리활성 검정

항균활성은 배지점적법, 항산화 활성은 DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 의한 라디칼소거능을 이용하여 전보(이 등, 2000)에 따라 행하였다.

### 2.4. 추출 및 용매분획

산벚나무 심재의 목분을 제조하여 음건시킨 후, 95% 에탄올(ethanol, EtOH)에 72시간 침적시켜 실온에서 3회 추출하였으며, 여기서 얻어진 에탄올 추출물은 석유에테르(petroleum ether), 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc)로 순차연속추출하여 분획하였다.

### 2.5. 기기분석

단리한 화합물에 대한 질량(MS)스펙트럼은 임업연구원(JEOL JMS-600W)으로, 그리고  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (Correlation Spectroscopy), NOESY (NOE Spectroscopy), HMQC ( $^1\text{H}$  Detected Multiple Quantum Coherence), HMBC ( $^1\text{H}$  Detected Multiple Bond Connectivity) 등의 핵자기공명(nuclear magnetic resonance : NMR) 스펙트럼은 일본 삼립총합연구소의 JEOL  $\alpha$ -500으로 측정하였다.

### 2.6. 각 성분의 단리

산벚나무 심재의 EtOAc 가용부(45.10 g)를  $\text{CHCl}_3$ -MeOH (14:1~9:1, v/v)의 용출용매로 순차적으로 용매의 극성을 높여가면서 silica gel column (6.0×38 cm)으로부터 300 ml씩 분취하여 25개의 분취물을 얻었으며, 각 분취물은 박층크로마토그래피(TLC: silica gel 60 F<sub>254</sub>, 전개용매 :  $\text{CHCl}_3$ -EtOAc-Formic acid = 5:4:1, v/v/v)에 전개시킨 후, UV (254 nm) 램프로 검색하여 20개의 분획물(F-1~F-20)로 나누었다.

Table 1. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectral data of compounds I and II

C	I (acetone-d <sub>6</sub> )		II (methanol-d <sub>4</sub> )	
	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
2	8.20 (s)	154.53, <i>d</i>	5.35 ( <i>dd</i> , 3.1 12.8)	80.25, <i>d</i>
3eq	-	124.19, <i>s</i>	2.70 ( <i>dd</i> , 3.1 17.1)	43.99, <i>t</i>
3ax	-	-	3.09 ( <i>dd</i> , 12.8 17.1)	-
4	-	181.76, <i>s</i>	-	197.62, <i>s</i>
5	-	163.58, <i>s</i>	-	165.45, <i>s</i>
6	6.34 ( <i>d</i> , 21)	98.79, <i>d</i>	5.88 ( <i>d</i> , 21)	97.10, <i>d</i>
7	-	166.64, <i>s</i>	-	168.37, <i>s</i>
8	6.34 ( <i>d</i> , 21)	92.90, <i>d</i>	5.89 ( <i>d</i> , 21)	96.19, <i>d</i>
9	-	158.77, <i>s</i>	-	164.78, <i>s</i>
10	-	106.77, <i>s</i>	-	103.35, <i>s</i>
1'	-	122.84, <i>s</i>	-	132.30, <i>s</i>
2'	7.45 ( <i>dd</i> , 2.7 11.6)	131.12, <i>d</i>	7.39 ( <i>dd</i> , 1.8 6.7)	128.92, <i>d</i>
3'	6.89 ( <i>dd</i> , 2.7 11.6)	115.97, <i>d</i>	6.94 ( <i>dd</i> , 1.8 6.7)	115.00, <i>d</i>
4'	-	158.51, <i>s</i>	-	161.42, <i>s</i>
5'	6.89 ( <i>dd</i> , 2.7 11.6)	115.97, <i>d</i>	6.94 ( <i>dd</i> , 1.8 6.7)	115.00, <i>d</i>
6'	7.45 ( <i>dd</i> , 2.7 11.6)	131.12, <i>d</i>	7.39 ( <i>dd</i> , 1.8 6.7)	128.92, <i>d</i>
OMe	3.91 (s)	56.40, <i>q</i>	3.79 (s)	55.76, <i>s</i>

Values are in ppm (δ<sub>H</sub> and δ<sub>C</sub>). <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectra were measured at 500 MHz and 125 MHz, respectively. Figures in parentheses are coupling constants (*J*) in Hz.

### 2.6.1. 화합물 I

위의 분획물 F-3 (5.05 g)을 용출용매 hexane-acetone (3:1, v/v)을 이용한 silica gel column (4.5 × 30 cm)을 사용하여 100 ml 씩 15개의 분획물을 얻었으며, TLC상에서 UV로 검색하여 3개의 분획물 (F-3-1~F-3-3)로 나누었다. 이 중 F-3-3 (1.80 g) 분획물을 benzene-EtOAc (20:1, v/v)를 용출용매로 한 silica gel column (2.0 × 25 cm)에서 3 ml 씩 100개로 분획한 후, UV 검색에 의해 7개의 분획물(F-3-1~F-3-7)로 나누었으며, 이 중 F-3-7 분획물로부터 화합물 I (5 mg)을 단리하였다.

Yellow powder, DSA (diazotized sulfanilic acid), FeCl<sub>3</sub> : 양성, EI-MS *m/z* : 284 (M<sup>+</sup>, base ion), 255, 167, 166, 138, 118, 95. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data: Table 2. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY correlations : H-2'/H-6' ↔ H-3'/H-5'. HMBC correlations : H-6 → C-5/C-7/

C-8/C-10, H-8 → C-6/C-7/C-9/C-10, H-3'/H-5' → C-1'/C-2'/C-3'/C-4'/C-5'/C-6'. H-2 → C-1'/C-3/C-4/C-9. NOESY correlations : H-2 ↔ H-2'/H-6', H-8/H-6 ↔ OMe.

### 2.6.2. 화합물 II

위의 F-3-3 분획물로부터 화합물 II (50 mg)을 단리하였다.

Colorless amorphous crystal, DSA, FeCl<sub>3</sub> : 양성, EI-MS *m/z* : 286 (M<sup>+</sup>), 285, 269, 243, 179, 153, 152, 134 (base ion), 121, 91, 69. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data: Table 2. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY correlations : H-3eq ↔ H-3ax/H-2, H-2'/H-6' ↔ H-3'/H-5', H-6 ↔ H-8. HMBC correlations : H-3eq → C-4, H-3ax → C-2/C-4/C-1', H-2 → C-2'/C-6'/C-1', H-6 → C-8/C-10/C-5/C-7, H-8 → C-6/C-10/C-9/C-7, H-2'/H-6' → C-1'/C-4', H-3'/

Table 2. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectral data of compounds III and IV

C	III(chloroform- <i>d</i> )		IV(DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>
2	5.33 ( <i>dd</i> , 2.7, 13.4)	78.95, <i>d</i>	5.55 ( <i>dd</i> , 3.1, 12.8)	78.32, <i>d</i>
3 <sub>eq</sub>	2.76 ( <i>dd</i> , 2.7, 17.1)	43.14, <i>t</i>	2.78 ( <i>dd</i> , 3.1, 17.1)	42.03, <i>t</i>
3 <sub>ax</sub>	3.07 ( <i>dd</i> , 13.4, 17.1)	-	3.19 ( <i>m</i> )	-
4	-	196.12, <i>s</i>	-	196.90, <i>s</i>
5	-	1164.09, <i>s</i>	-	130.82, <i>d</i>
6	6.05 ( <i>d</i> , 1.8)	95.11, <i>d</i>	6.12 ( <i>d</i> , 1.8)	162.88, <i>s</i>
7	-	168.02, <i>s</i>	-	165.28, <i>s</i>
8	6.02 ( <i>d</i> , 1.8)	94.27, <i>d</i>	6.15 ( <i>d</i> , 1.8)	95.48, <i>d</i>
9	-	162.89, <i>s</i>	-	162.45, <i>s</i>
10	-	103.10, <i>s</i>	-	103.24, <i>s</i>
1'	-	130.45, <i>s</i>	-	130.34, <i>s</i>
2'	7.30 ( <i>d</i> , 8.6)	127.95, <i>d</i>	7.43 ( <i>d</i> , 8.5)	128.22, <i>d</i>
3'	6.86 ( <i>d</i> , 8.6)	115.67, <i>d</i>	6.96 ( <i>d</i> , 8.5)	113.89, <i>d</i>
4'	-	156.18, <i>s</i>	-	159.47, <i>s</i>
5'	6.86 ( <i>d</i> , 8.6)	115.67, <i>d</i>	6.96 ( <i>d</i> , 8.5)	113.89, <i>d</i>
6'	7.30 ( <i>d</i> , 8.6)	127.95, <i>d</i>	7.43 ( <i>d</i> , 8.5)	128.22, <i>d</i>
OMe	3.78 ( <i>s</i> )	55.67, <i>s</i>	3.76 ( <i>s</i> )	55.14, <i>s</i>
OH	11.99 ( <i>s</i> )	-	11.99 ( <i>s</i> )	-
1''	-	-	4.93 ( <i>d</i> , 7.9)	99.64, <i>d</i>
2''	-	-	3.22 ( <i>m</i> )	72.99, <i>d</i>
3''	-	-	3.39 ( <i>m</i> )	77.05, <i>d</i>
4''	-	-	3.15 ( <i>m</i> )	69.54, <i>d</i>
5''	-	-	3.27 ( <i>m</i> )	76.28, <i>d</i>
6''	-	-	3.45 ( <i>m</i> )	60.57, <i>t</i>
			3.65 ( <i>dd</i> , 4.9, 9.8)	

※ the same as Table 1.

H-5'→C-1'/C-3'/C-4'/C-5'. OMe→C-4'. NOESY correlations : H-3'/H-5'↔OMe, H-2'/H-6'↔H-2.

### 2.6.3. 화합물 III

위의 F-3-5 분획물로부터 화합물 III (116 mg)을 분리하였다.

White powder, DSA, FeCl<sub>3</sub> : 양성, EI-MS *m/z* : 286 (M<sup>+</sup>, base ion), 285, 193, 180, 167, 166, 138, 120, 95. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data: Table 3. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY correlations : H-3<sub>ax</sub>↔H-3<sub>eq</sub>/H-2, H-2'/H-

6'↔H-3'/H-5'. HMBC correlations : H-3<sub>eq</sub>→C-4, H-3<sub>ax</sub>→C-2/C-4/C-1', OMe→C-7, 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, H-2'/H-6'→C-1'/C-3'/C-4'/C-5', H-3'/H-5'→C-1'/C-2'/C-3'/C-4'/C-5'/C-6'. OH-5→C-5/C-6/C-10. NOESY correlations : H-6/H-8↔OMe.

### 2.6.4. 화합물 IV

위의 F-15~F-17 분획물에서 생성된 침전물을 여과하여 얻은 결정성 물질(1.27 g)을 CHCl<sub>3</sub>-MeOH

Table 3. Antifungal activities of compounds isolated from the heartwood extractives of *P. sargentii*

compound <sup>1)</sup>	hyphal growth inhibition rate (%) <sup>1)</sup>					
	<i>G. cingulata</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>C. parasitica</i>	<i>T. versicolor</i>	<i>T. palustris</i>	<i>T. viride</i>
prunetin	19.0	26.2	14.3	52.4	10.7	27.4
angophorol	7.1	13.1	56.0	31.0	35.7	16.7
sakuranetin	15.5	20.2	26.8	23.8	15.5	33.3
isosakuranin	14.3	21.4	7.1	31.0	4.8	2.4

<sup>1)</sup> 100 µg/ml of each compounds was added

(14:1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel column (4.5 × 45 cm)을 이용하여 100 ml 씩 용출시켜 30개의 분획물을 얻었으며, UV 검색 결과 3개의 분획물(F-15-1~F-15-3)로 나누었으며, 이 중 F-15-1 분획물로부터 화합물 IV (44 mg)을 단리하였다.

White powder, DSA, FeCl<sub>3</sub> : 양성, EI-MS *m/z* : 448 (M<sup>+</sup>), 286 (M<sup>+</sup>-162, base ion), 256, 179, 152, 134, 121, 73. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data: Table 3. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY correlations : H-2↔H-3ax, H-1''↔H-2'', H-2'/H-6'↔H-3'/H-5'. HMBC correlations : H-6→C-5/C-7/C-8/C-10, H-8→C-6/C-7/C-9/C-10, H-2'/6'→C-2/C-2'/C-4'/C-6', H-3'/5'→C-1'/C-3'/C-4'/C-5', H-1''→C-7, OMe→C-4'. NOESY correlations : H-3eq/H-2'/H-6'↔H-2, H-3'/H-5'↔OMe, H-1''↔H-6/H-8.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 단리물질의 화학구조

##### 3.1.1. 화합물 I (prunetin)

산벚나무의 심재의 EtOAc 가용부에서 노란색 분말로 얻어진 화합물 I은 TLC상 주요성분의 하나로 여겨지며, DSA, FeCl<sub>3</sub> 등의 정색반응에서 양성을 나타내었다. 화합물 I의 EI-MS에서는 분자이온 피크(M<sup>+</sup>)가 *m/z* 284 이었으며, 주요 이온 peak로서는 255, 166, 138 등을 나타냈는데, 이는 RDA (Retro-

Diels-Alder)개열에 기인하는 것으로 flavonoid 화합물임을 시사하고 있다(Markham, 1982). 또한 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서는 δ 8.20의 1 H의 상당하는 singlet의 시그날은 전형적인 isoflavonoid의 구조의 2위의 proton에 유래한다. δ 6.89 및 δ 7.45 에 나타나는 4 H에 해당하는 2개의 double doublet의 시그날은 *ortho* (*J* = 11.6 Hz) 및 *meta* (*J* = 2.7 Hz) 결합에 기인하는 proton으로 화합물 I의 부분구조 중에 1, 4-2치환 벤젠핵의 존재를 나타내고 있다. 그리고 δ 3.91의 singlet 시그날은 메톡실기의 proton에 귀속하였는데, 이는 NOESY spectrum에서 H-8위와 H-6위의 proton과의 상관피크의 존재를 확인함으로써 메톡실기가 7위의 탄소에 결합되어 있다는 것을 알 수 있었다. 화합물 I의 <sup>13</sup>C-NMR에서는 합계 16개의 시그날이 나타났으며, 이 중 δ 154.53 및 δ 124.19의 시그날은 isoflavanone 부분구조의 C-2위 및 C-3위의 탄소에 각각 귀속하였다(Agrawal, 1989). 이상의 분석결과, 화합물 I은 4', 5-dihydroxy-7-methoxyisoflavone, 즉 prunetin으로 동정되었다 (Fig. 1). 이 화합물은 *Pterocarpus soyauxii* 심재에서도 단리되었다는 보고가 있다(Barend *et al.*, 1987).

##### 3.1.2. 화합물 II (angophorol)

무색의 무정형 결정으로 단리되어진 화합물 II은 DSA, FeCl<sub>3</sub> 등의 정색반응에서 양성을 나타냄으로써 페놀성 화합물임을 시사하고 있으며, EI-MS 스펙트럼에서는 M<sup>+</sup>가 *m/z* 286를 나타내었다. 화합물 II의

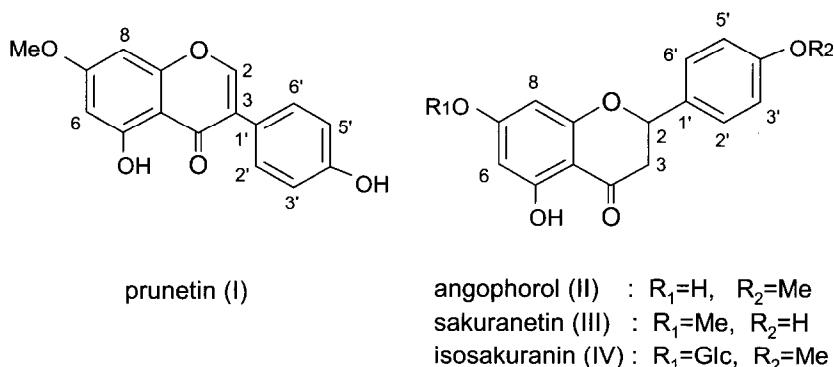


Fig. 1. Compounds isolated from the heartwood of *Prunus sargentii*.

<sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 고자장측의 δ 2.70 (1 H, *J* = 3.1, 17.1 Hz, H-3eq) 과 δ 3.09 (1H, *J* = 12.8, 17.1 Hz, H-3ax)의 2개의 double doublet의 시그널, 그리고 δ 5.35 (1H, *J* = 3.1, 12.8 Hz, H-2)에 나타나는 1개의 double doublet의 시그널은 heterocyclic flavanone 부분구조의 H-3eq, H-3ax 및 H-2위의 proton에 각각 귀속하였다. δ 3.79의 3H에 해당하는 singlet는 메톡실기에 유래하는 것으로, 화합물 II의 HMBC 스펙트럼에서 -OCH<sub>3</sub>의 proton과 C-4'의 탄소와의 교차 peak, 그리고 NOESY 스펙트럼에서 H-3' 및 H-5' proton과의 상관 peak의 존재를 확인함으로써 메톡실기가 B환의 C-4'위의 탄소에 결합하고 있음을 알 수 있다.

DEPT(45°, 90°, 135°)법에 의한 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서는 모두 16개의 탄소 시그널이 나타나 있는데, 이는 primary 와 secondary 탄소가 1개씩, 그리고 tertiary 및 quaternary 탄소가 각각 7개 있음을 알 수 있었다. 그리고 δ 197.62의 시그널은 flavanone 화합물에서 특징적으로 나타나는 carbonyl기에서 기인하는 것으로 C-4위의 탄소에 귀속하였다. 이상의 결과, 화합물 II는 4'-methoxy-5, 7-dihydroxyflavanone인 angophorol로 동정되었다(Fig. 1).

### 3.1.3. 화합물 III (sakuranetin)

화합물 III은 백색 분말로 분리되었으며, EI-MS 스펙트럼에서는 M<sup>+</sup>가 *m/z* 286를 나타내었다. 화합물

III의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 고자장측의 δ 2.76과 δ 3.07에 나타난 2H에 해당하는 2개의 double doublet의 시그널은 heterocyclic flavanone 부분구조의 H-3eq (*J* = 2.7 17.1 Hz) 및 H-3ax (*J* = 13.4, 17.1 Hz) 위의 proton에 각각 귀속하였다. δ 3.78의 singlet는 메톡실기에 유래하는 것으로, 화합물 III의 HMBC 스펙트럼에서 methoxyl기의 proton과 C-7위의 탄소와의 교차 peak, 그리고 NOESY 스펙트럼에서 H-6 및 H-8위 proton과의 상관 peak을 나타냄으로써 메톡실기가 A환의 C-7위의 탄소에 귀속하였다. 또한 저장측에 나타난 δ 11.99의 singlet는 hydroxyl기에 기인하는 것으로, 이는 화합물 III의 HMBC에서 hydroxyl기의 proton과 C-5, C-6, C-10위 탄소와의 교차 peak을 확인함으로써 hydroxyl기가 A환의 C-5위의 탄소에 결합하고 있음을 알 수 있다.

<sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서는 모두 16개의 탄소 시그널이 나타나었는데, 이 중 δ 43.14의 시그널은 flavanone 화합물의 C-3위의 methylene 탄소에 귀속하였다. 이외의 δ 103.10, δ 130.45, δ 156.18, δ 162.89, δ 164.09, δ 168.02의 시그널들은 quaternary 탄소에 기인하는 것으로 C-10, C-1', C-4', C-9, C-5 및 C-7위의 탄소에 각각 귀속하였다(Harborn & Mabrt, 1982). 이상의 결과, 화합물 III은 4', 5'-dihydroxy-7-methoxyflavanone인 sakuranetin으로 동정되었다(Fig. 1). 이 화합물은 *Ophryosporus floribundus*, *Baccharis concava* 등에서도 단리 되었다는 보고가 있다(7. Cecilia & Castillo, 1990; Zdero *et al.*, 1990).

Table 4. Free radical scavenging activity of compounds isolated from the heartwood extractives of *P. sargentii*

compound	free radical scavenging activity (%)	
	100 µg/ml	10 µg/ml
prunetin	15	0
angophorol	23.1	0
sakuranetin	12.0	0
isosakuranin	0.5	0
butylated hydroxytoluene	87.4	24.5
$\alpha$ -tocopherol	94.0	41.6

### 3.1.4. 화합물 IV (isosakuranin)

백색의 분말로 단리되어진 화합물 IV은 DSA, FeCl<sub>3</sub> 등의 정색반응에서 양성을 나타내었다. EI-MS 스펙트럼에서는 M<sup>+</sup>가 m/z 448을, 그리고 주요 이온 peak로서는 m/z 286(M<sup>+</sup>-162), 256, 178, 134, 121 등을 나타냈으며, 이 중 m/z 286는 base ion peak이며, 분자이온에서 1분자의 glucose가 탈리되어진 것을 시사하고 있다. 화합물 IV의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서  $\delta$  5.55 ( $J = 3.1, 12.8$  Hz, H-2)에 나타나는 1H의 double doublet의 시그널은 H-2위의 proton에 기인하며,  $\delta$  4.93 ( $J = 7.9$  Hz, H-1'')의 doublet 시그널은 당 부분구조에서 유래하는 아노머 proton인 H-1''에 귀속하였다. 이는 화합물 IV의 HMBC 스펙트럼에서 아노머 proton인 H-1''와 aglycone 부분의 C-7의 탄소와의 교차 peak, 그리고 NOESY 스펙트럼에서 H-1''의 proton과 H-6 및 H-8의 proton과의 상관 peak의 존재로부터 1개의 glucose가 C-7위의 탄소에 결합한 화합물임을 확인할 수 있었다.

DEPT법에 의한 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서는 합계 22개의 시그널이 나타나 있는데, secondary 탄소가 2개, tertiary 탄소가 12개 그리고 quaternary 탄소가 7개의 화합물임을 알 수 있었으며, 이 중  $\delta$  99.64는 당에서 기인하는 아노머 탄소를 비롯하여,  $\delta$  72.99,  $\delta$  77.05,  $\delta$  69.54,  $\delta$  76.28의 시그널은 당부분구조에서 유래하는 C-2, C-3, C-4 및 C-5위의 methin 탄소에 각각 귀속하였다(Harborn, 1994; Harborn *et al.*, 1988). 이상의 결과, 화합물 IV는 5-hydroxy-4'-methoxy-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoflavanone인

isosakuranin으로 동정하였다(Fig. 1).

## 3.2. 단리물질의 생리활성

### 3.2.1. 단리물질의 항균활성

산벚나무로부터 단리한 prunetin, angophorol, sakuranetin, 및 isosakuranin의 항진균활성을 균사 생장억제율로 조사하였다. 그 결과 prunetin이 백색 부후균인 *T. versicolor*에 대해서 52.4%의 억제율을, 그리고 angophorol이 밤나무 동고병균인 *C. parasitica*에 대해 56.0%의 억제율을 나타내었을 뿐 활성이 낮은 것으로 나타났다(Table 3). 즉, prunetin은 *T. versicolor*를 제외한 공시균주에 대해 30%이하의 억제율을, 그리고 angophorol은 *C. parasitica*를 제외한 공시균주에 대해 40%이하의 억제율을 나타내었다. 또한, sakuranetin과 isosakuranin은 모든 공시균주에 대해 35%이하의 억제율을 나타내어 항균활성이 낮은 것으로 판단되었다. 이상의 결과 산벚나무에 탄을 조추출물의 높은 항균활성은 전보에 보고한(이 등, 2001a) pinocembrin에 의한 것이며 이번에 단리한 물질은 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

### 3.2.1. 단리물질의 항산화활성

항산화활성을 검정하기 위해 단리물질의 프리라디칼(free radical) 소거능을 합성항산화제인 BHT 및 천연항산화제인  $\alpha$ -tocopherol과 비교·측정하였다. 그 결과, 대조구인 BHT 및  $\alpha$ -tocopherol은 100 µg/

ml의 농도에서 85% 이상의 소거능을 나타낸 반면 단리물질 중에서는 angophorol만이 100  $\mu\text{m}/\text{ml}$ 에서 23.1%의 소거능을 나타내었을 뿐 그 외의 단리물질은 소거능이 없거나 낮아 활성이 없는 것으로 판단되었다(Table 4). 이러한 낮은 라디칼소거능은 다른 예에서도 볼 수 있듯이(Rice-Evans 등, 1995; 이 등, 2000) 단리물질의 구조적인 특징에 기인하는 것으로 단리물질 모두 페놀성 수산기가 2개 이하(prunetin, angophorol, sakuranetin : 2개, isosakuranin : 1개)로 라디칼을 소거할 수 있는 부분 구조가 적어 활성이 낮아진 것으로 생각되었다. 그러므로, 산벚나무 에탄올 조추출물의 높은 항산화활성 역시 전보에 보고한(이 등, 2001a) taxifolin과 eriodictyol에 기인하는 것이며 이번에 단리한 물질은 관여하지 않는 것으로 사료되었다.

## 4. 결 론

산벚나무 심재의 에틸아세테이트 가용부로부터 silica gel column을 이용하여 4개의 flavonoid 화합물을 단리하였다. 이들을 기기분석한 결과 isoflavone인 prunetin (I)를 비롯하여 flavanone인 angophorol (II), sakuranetin (III) 그리고 flavanone 배당체인 isosakuranin (IV) 등으로 각각 동정되었다. 그러나 이들의 항균 및 항산화 활성을 조사한 결과 활성이 낮은 것으로 나타나 산벚나무 에탄올 조추출물의 높은 항균 및 항산화 활성은 이들 물질과는 관련이 없는 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. 이성숙, 이학주, 강하영, 최돈하. 1999. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(I). 산림과학논문집 61: 82~89.
2. 이성숙, 이학주, 최돈하. 2001a. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(VII). 목재공학 29(2): 140~145.
3. 이성숙, 이학주, 최돈하, 菱山正二郎, 加藤 厚. 2000. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(IV). 목재공학 28(3): 70~77.
4. 이성숙, 최돈하, 이학주, 강하영. 2000. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(II). 목재공학 28(2): 32~41.
5. 이학주, 이성숙, 최돈하, 加藤 厚. 2001b. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(VI). 목재공학 29(2): 133~139.
6. Agrawal, P. K. 1989. Carbone-13 NMR of flavonoids. Elsevier. New York. pp. 564.
7. Barend C. B., E. Bezuidenhoudt, B. Vincent, and F. Daneel. 1987. Flavonoid analogues from *Pterocarpus* species. Phytochemistry 26(2): 531~535.
8. Cecilia L. F. F. and M. Castillo. 1990. Diterpenoids from chilean *Baccharis* species. Phytochemistry 29(1): 324~325.
9. Harborn, J. B. 1994. The flavonoids. Chapman & Hall. New York. pp. 676.
10. Harborn, J. B. and T. J. Mabrt. 1982. The flavonoids : Advances in Reserch. Chapman & Hall. New York. pp. 19~134.
11. Harborn, J. B., T. J. Mabrt, and H. Mabry. 1988. The flavonoids. Chapman & Hall. New York. pp. 621.
12. Markham, K. R. 1982. Technicals of Flavonoid Identification. Academic press. New York. pp. 113.
13. Rice-Evans, C. A., N. J. Miller, P. G. Bolwell, P. M. Bramley, and J. B. Pridham. 1995. The relative antioxidant activites of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Rad. Res. 22(4): 375~383.
14. Zdero C., F. Bohlmann, and M. Niemeyer. 1990. Seco-labdanes and other constituents from *Ophryosporus floribundus*. Phytochemistry 29(10): 3247~3253.