

국내산 주요 침엽수 잎의 추출성분(I)*¹ - 구상나무(*Abies koreana* Maximowicz)와 전나무(*Abies holophylla* Wilson) 잎 추출성분의 항산화 활성 -

이 상 극*² · 최 돈 하*² · 배 영 수*^{3†}

A Study on the Extractives of Domestic Major Softwood Needles (I)*¹ - Antioxidant Activity of the Extractives from the Needles of *Abies koreana* Maximowicz and *Abies holophylla* Wilson -

Sang-Keug Lee*² · Don-Ha Choi*² · Young-Soo Bae*^{3†}

요 약

구상나무(*Abies koreana* Maximowicz)와 전나무(*Abies holophylla* Wilson) 잎을 채취하여 건조시킨 후 분말로 제조하여 각각 1.5 kg을 아세톤-물(7:3, v/v)로 추출하고 hexan, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성으로 분획하여 동결건조 시켰다. 에틸아세테이트용성 분획을 Sephadex LH-20으로 충전한 칼럼에서 메탄올과 에탄올-hexan 혼합액을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 단리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 ¹H-, ¹³C-NMR, COSY, HETCOR 등의 스펙트럼을 사용하여 정확한 구조를 규명하였고 FAB 및 EI-MS로써 분자량을 측정하였다. 많은 양의 aromadendrin-7-O-β-D-glucopyranoside (화합물 III), polydatin (화합물 VI), (-)-rhododendrol-2-O-β-D-glucopyranoside (화합물 VII)가 단리되었으며, 소량의 (+)-catechin (화합물 I), kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside (화합물IV), myricetin-3-O-β-D-glucopyranoside (화합물 V), naringenin-7-O-β-D-glucopyranoside (화합물 II)도 단리 되었다. DPPH 라디칼 소거법을 이용하여 단리된 화합물들에 대한 항산화 활성시험을 실시하였으며 (+)- catechin 과 polydatin이 항산화 효능을 나타내었다.

*¹ 접수 2006년 3월 3일, 채택 2006년 3월 24일

*² 국립산림과학원 Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea.

*³ 강원대학교 산림과학대학 임산공학과 Dept. of Wood Science & Engineering, College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

† 주저자(corresponding author) : 배영수(e-mail: bae@kangwon.ac.kr)

ABSTRACT

The dried needles (15 kg) of *Abies koreana* and *Abies holophylla* were ground, extracted with acetone-H₂O (7:3, v/v), concentrated, and fractionated with a series of hexane, methylene chloride, ethyl acetate and water on a separatory funnel. Each fraction was freeze dried, then a portion of ethyl acetate soluble powder was chromatographed on a Sephadex LH-20 column using a series of aqueous methanol and ethanol-hexane mixture as eluents. The isolated compounds were identified by cellulose TLC, ¹H, ¹³C-NMR, COSY, HETCOR, FAB and EI-MS. The needles of *Abies koreana* and *Abies holophylla* contained a large amount of aromadendrin-7-O-β-D-glucopyranoside (compound III), polydatin (compound VI), (-)-rhododendrol-2-O-β-D-glucopyranoside (compound VII), in addition to a small amount of (+)-catechin (compound I), kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside (compound IV), myricetin-3-O-β-D-glucopyranoside (compound V), naringenin-7-O-β-D-glucopyranoside (compound II). DPPH analysis was also tested to investigate the antioxidative effects on the isolated compounds and (+)-catechin and polydatin were effective.

Keywords: *Abies koreana*, *Abies holophylla*, polydatin, rhododendrol, DPPH, antioxidative activity

1. 서 론

구상나무(*Abies koreana* Wilson)는 상록 교목으로 한라산, 지리산, 덕유산 및 무등산에만 자생하는 우리나라의 특산종으로 그 열매의 빛깔에 따라서 기본 종 외에 세 가지 품종으로 나누기도 한다. 구과의 색이 푸른 것을 푸른구상(*A. koreana* for. *chlorocarpa* T. Lee), 검은 것을 검은구상(*A. koreana* for. *nigrocarpa* Hatus.) 붉은 것을 붉은구상(*A. koreana* for. *rubrocarpa* T. Lee)이라 한다. 구상나무는 또한 수형이 아름다워 관상수나 공원수, 크리스마스 장식용으로 좋으며 목재는 가구재나 건축재, 펄프용재 등으로 다양하게 사용된다(김, 1996; 이, 1986).

전나무(*Abies holophylla* Maximowicz)는 중국과 우리나라의 높은 산지에 자생하는 수종으로 상록 교목이고 소나무와 잣나무 곁에서 자란다고 하여 측백이라고 부르기도 하며 이 나무의 수피에 흰빛이 돈다고 하여 백송이라고도 불리었다. 전나무는 주로 관상용, 조림용, 건축재, 가구재 등으로 이용되어 왔으며, 이 외에도 한방에서 잎은 류머티즘, 요통, 폐렴 등에 사용하였고 뿌리와 잎에서는 방향유를 채취하였다. 생송진은 수증기로 증류하여 약으로 쓰는 테레핀유를

만들거나 지혈제로 이용하였으며, 송진이나 가지를 건류한 기름으로 고약을 만들어 근염, 급성 혈류 장애에 쓰였다고 한다(김, 1996; 이, 1997).

최근 천연물에 대한 관심이 높아지면서 연구가 활발히 진행되고 있으며 천연물로부터 기능성물질을 탐색하기 위하여 많은 노력을 기울이고 있고, 또한 수목의 목재, 잎 등의 추출성분 중 생리활성이 뛰어난 성분들을 이용한 기능성 물질로서의 활용방안도 활발히 연구되고 있다. 우리나라는 산림면적이 65% 이상이며 풍부한 산림자원을 보유하고 있으며 침엽수와 활엽수의 비율이 서로 비슷한 구성을 나타내고 있으나 수목의 약리적, 기능적 이용에는 대부분 활엽수가 이용되어 왔으며 침엽수의 이용은 매우 제한적이었다. 또한 우리나라 침엽수림의 대부분은 소나무나 잣나무 및 낙엽송 등으로 구성되어 있으나 이 수종들의 잎의 추출성분에 관한 연구 및 실험은 아직 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 국내에 식재되어 있는 침엽수 잎 추출성분들의 효율적 이용에 관한 연구의 하나로, 추출성분을 분리·정제하여 화학구조를 결정하고, 기초적인 생리활성실험으로서 DPPH 라디칼 소거능법을 이용한 항산화 실험을 수행하여 수목으로부터 얻어지는 천연물을 약리적 및 기능적으로 응용하

기 위한 기초 자료를 얻기 위하여 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

2001년 7월 강원도 춘천시 사농동의 육종시험림에서 구상나무와 전나무의 잎을 채취하여 실험실에서 약 2주간 건조한 후 분쇄기를 사용하여 추출용 분말로 조제하였다.

2.2. 추출물의 조제 및 분리

기건 된 구상나무와 전나무 잎 분말 각 1.5 kg을 10 l의 유리용기에 넣고 acetone-H₂O (7:3, v/v)의 혼합용액에 침적하여 실험실에서 약 3일간 추출하였으며, 충분한 양을 얻기 위하여 이와 같은 조작을 4회 반복 실시하여 농축하였다. 농축된 추출물은 분획갈매기에서 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트를 사용하여 헥산 가용부, 메틸렌클로라이드 가용부, 에틸아세테이트 가용부 및 물 가용부로 분리하고 동결건조 시켜서 분말상의 시료로 사용하였다.

2.3. 추출물의 분리 및 단리

구상나무와 전나무 잎의 추출물로부터 분획된 에틸아세테이트 가용부에서 단일 화합물을 단리, 정제하기 위하여 반복적인 칼럼크로마토그래피를 실시하였으며 충전물질로는 Sephadex LH-20을 사용하였고 용출용매는 EtOH-hexane 혼합액과 MeOH 수용액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector (Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았으며 분리된 물질의 확인은 셀룰로오스 박층크로마토그래피(TLC)를 이용하여 확인하였다. 전개용매로 6% AcOH (solvent A)과 *t*-BuOH-AcOH-H₂O (3:1:1, solvent B)을 사용하였으며 TLC상에 전개된 화합물은 UV 램프(ENF-240C)로 관찰하였고, vanillin-HCl-EtOH 용액을 전개된 TLC 판에 분무하여 발색되는 색깔을 관찰하였다. 또한 단리화합물의 순도를 확인하기 위하여 solvent A와 solvent B를 순

차적으로 교차하여 전개하는 2차원 박층크로마토그래피를 실시하였다. 한편, 결정 또는 침전물이 생기는 경우에는 재결정법을 실시하여 정제하였다.

구상나무 잎의 에틸아세테이트 가용부 23.3 g을 MeOH-H₂O (5:1, v/v)을 용출용매로 1차 칼럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 fraction으로 분리하였으며 ALE로 표기하였다. ALE-3 및 ALE-4 fraction에서 발생한 결정을 정제하여 stilbene배당체인 polydatin (화합물 VI)을 단리하였다. ALE-3 fraction을 MeOH-H₂O (2:1~1:6, v/v)을 용출용매로 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시한 결과 flavonoid 배당체인 aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside (화합물 III)과 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (화합물 IV)를 단리하였으며 ALE-2 fraction을 MeOH-H₂O (2:1~1:6, v/v)과 EtOH-hexane (4:1, v/v)을 용출용매로 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 5-hydroxy-6-methyl- α -pyrone (화합물 VIII)을 단리하였다.

전나무 잎의 에틸아세테이트 가용부 20.0 g을 MeOH-H₂O (4:1, v/v)을 용출용매로 1차 분리를 실시하여 5개의 fraction으로 분리하였으며 JLE로 표기하였다. JLE-1 fraction을 용출용매 MeOH-H₂O (2:1, 1:2, v/v)와 EtOH-hexane (4:1, v/v)로 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside (화합물 III)을 단리하였다. JLE-2와 JLE-3 fraction에서 발생한 결정을 정제하여 (-)-rhododendrol-2-O- β -D-glucopyranoside (화합물 VII)을 단리하였다. JLE-4 fraction을 MeOH-H₂O (2:1, 1:2, 1:4, v/v)와 EtOH-hexane (4:1, v/v)을 용출용매로 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 (+)-catechin (화합물 I) 및 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (화합물 IV), 그리고 myricetin-3-O- β -D-glucopyranoside (화합물 V)를 단리하였다.

2.4. 단리화합물의 구조분석

단리된 화합물들의 구조 분석은 NMR spectrometer (Bruker ADVANCE DPX)를 사용하여 ¹H, ¹³C-NMR 스펙트럼과 COSY, HETCOR 스펙트럼을 분석하였으며 분자량은 Mass spectrometer (VG70-VSEQ)

를 이용하여 FAB 및 EI-MS를 측정하였다.

(C-7), 199.39 (C-4).

2.4.1. 화합물(II) : Naringenin-7-O- β -D-glucopyranoside

R_f : 0.68 (solvent A), 0.63 (solvent B).

FAB-MS : m/z $[M+H]^+$ 435.

1H -NMR (400 MHz, δ , MeOH- d_4) : 2.72 (1H, *dd*, $J = 2.58$ Hz and $J = 17.08$ Hz, H-3eq), 3.11 (1H, *dd*, $J = 12.64$ Hz and $J = 17.12$ Hz, H-3ax), 3.30~4.13 (5H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 4.78 (1H, *d*, $J = 9.93$ Hz, H-1''), 5.33 (1H, *d*, $J = 11.04$ Hz, H-2), 5.96 (1H, *s*, H-6), 5.96 (1H, *s*, H-8), 6.81 (2H, *d*, $J = 8.50$ Hz, H-3', 5'), 7.29 (2H, *d*, $J = 8.51$ Hz, H-2', 6').

^{13}C -NMR (100 MHz, δ , MeOH- d_4) : 43.89 (C-3), 62.93 (C-6''), 71.84 (C-4''), 75.21 (C-2''), 80.20 (C-5''), 80.48 (C-3''), 82.55 (C-2), 96.38 (C-8), 96.43 (C-6), 103.28 (C-10), 105.99 (C-1''), 116.37 (C-3', 5'), 129.08 (C-2', 6'), 130.94 (C-1'), 159.07 (C-4'), 164.25 (C-9), 164.29 (C-5), 167.32 (C-7), 198.12 (C-4).

2.4.2. 화합물(III) : Aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside

R_f : 0.43 (solvent A), 0.72 (solvent B).

FAB-MS : m/z $[M+H]^+$ 451.

1H -NMR (400 MHz, δ , MeOH- d_4) : 3.30~3.38 (5H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 4.59 (1H, *d*, $J = 11.65$ Hz, H-3), 4.96 (1H, *d*, $J = 7.02$ Hz, H-1''), 5.01 (1H, *d*, $J = 11.76$ Hz, H-2), 6.19 (1H, *d*, $J = 2.12$ Hz, H-6), 6.22 (1H, *d*, $J = 2.14$ Hz, H-8), 6.83 (2H, *d*, $J = 8.44$ Hz, H-3', 5'), 7.35 (2H, *d*, $J = 8.55$ Hz, H-2', 6').

^{13}C -NMR (100MHz, δ , MeOH- d_4) : 62.29 (C-6''), 71.11 (C-4''), 73.77 (C-3), 74.61 (C-2''), 77.75 (C-3''), 78.24 (C-5''), 85.13 (C-2), 96.99 (C-8), 98.29 (C-6), 101.27 (C-1''), 103.49 (C-10), 116.14 (C-3', 5'), 129.06 (C-1'), 130.43 (C-2', 6'), 159.28 (C-4'), 164.27 (C-9), 164.76 (C-5), 167.30

2.4.3. 화합물(IV) : Kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside

R_f : 0.58 (solvent A), 0.22 (solvent B).

FAB-MS : m/z $[M+H]^+$ 449.

1H -NMR (400 MHz, δ , MeOH- d_4) : 3.21~3.94 (5H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 5.24 (1H, *d*, $J = 7.06$ Hz, H-1''), 6.19 (1H, *d*, $J = 1.08$ Hz, H-6), 6.38 (1H, *br s*, H-8), 6.88 (2H, *d*, $J = 8.57$ Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, *d*, $J = 8.71$ Hz, H-2', 6').

^{13}C -NMR (100 MHz, δ , MeOH- d_4) : 62.64 (C-6''), 71.37 (C-4''), 75.76 (C-2''), 78.06 (C-5''), 78.43 (C-3''), 94.85 (C-8), 100.00 (C-6), 104.16 (C-1''), 105.69 (C-10), 116.10 (C-3', 5'), 122.80 (C-1'), 132.32 (C-2', 6'), 135.49 (C-3), 158.53 (C-2), 159.09 (C-9), 161.61 (C-4'), 163.06 (C-5), 166.24 (C-7), 179.51 (C-4).

2.4.4. 화합물(V) : Myricetin-3-O- β -D-glucopyranoside

R_f : 0.52 (solvent A), 0.59 (solvent B).

FAB-MS : m/z $[M+H]^+$ 481.

1H -NMR (400 MHz, δ , MeOH- d_4) : 3.30~3.74 (5H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 5.24 (1H, *d*, $J = 7.63$ Hz, H-1''), 6.20 (1H, *d*, $J = 1.98$ Hz, H-6), 6.38 (1H, *d*, $J = 2.07$ Hz, H-8), 7.30 (2H, *s*, H-2', 6').

^{13}C -NMR (100 MHz, δ , MeOH- d_4) : 62.45 (C-6''), 71.08 (C-4''), 75.72 (C-2''), 78.20 (C-3''), 78.39 (C-5''), 94.72 (C-8), 99.95 (C-6), 104.52 (C-1''), 105.65 (C-10), 110.02 (C-2', 6'), 121.94 (C-1'), 135.84 (C-3), 137.95 (C-4'), 146.35 (C-3', 5'), 158.45 (C-9), 159.04 (C-2), 163.04 (C-5), 166.17 (C-7), 179.46 (C-4).

2.4.5. 화합물(VI) : Polydatin

R_f : 0.29 (solvent A), 0.20 (solvent B).

FAB-MS : m/z $[M+H]^+$ 391.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, δ , MeOH- d_4) : 3.33~3.49 (4H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5''), 3.70 (1H, *dd*, $J = 5.75$ Hz, and $J = 12.01$ Hz, H-6''b), 3.92 (1H, *dd*, $J = 2.01$ Hz, and $J = 12.08$ Hz, H-6''a), 4.89 (1H, *d*, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 6.44 (1H, *t*, $J = 2.14$ Hz, H-4), 6.61 (1H, *br s*, H-6), 6.26 (2H, *d*, $J = 8.62$ Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, *br s*, H-2), 6.83 (1H, *d*, $J = 16.29$ Hz, H-7), 7.00 (1H, *d*, $J = 16.27$ Hz, H-8), 7.33 (2H, *d*, $J = 8.62$ Hz, H-2', 6').

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, δ , MeOH- d_4) : 62.97 (C-6''), 71.86 (C-4''), 75.34 (C-2''), 78.43 (C-3''), 78.63 (C-5''), 102.78 (C-1''), 104.47 (C-4), 107.39 (C-2), 108.73 (C-6), 116.88 (C-3', 5'), 127.05 (C-7), 129.31 (C-2', 6'), 130.37 (C-8), 130.71 (C-1'), 141.82 (C-1), 158.86 (C-4'), 159.96 (C-5), 160.86 (C-3).

2.4.6 화합물(VII) : (-)-Rhododendrol-2-O- β -D-glucopyranoside

R_f : 0.72 (solvent A), 0.85 (solvent B).

EI-MS : m/z $[M]^+$ 328.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, δ , MeOH- d_4) : 1.19 (3H, *d*, $J = 6.22$ Hz, H-1 (Me)), 2.61 (2H, *m*, H-4), 1.86 (1H, *m*, H-3a), 1.68 (1H, *m*, H-3b), 3.18~3.93 (5H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 3.89 (1H, *m*, H-2), 4.33 (1H, *d*, $J = 7.83$ Hz, H-1''), 6.63 (2H, *d*, $J = 8.42$ Hz, H-3', 5'), 7.03 (2H, *d*, $J = 8.40$ Hz, H-2', 6').

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, δ , MeOH- d_4) : 18.95 (C-1 (Me)), 30.81 (C-4), 39.59 (C-3), 61.82 (C-6''), 70.72 (C-4''), 74.12 (C-2), 74.12 (C-2''), 76.80 (C-3''), 77.16 (C-5''), 101.24 (C-1''), 115.01 (C-3', 5'), 129.40 (C-2', 6'), 133.67 (C-1'), 155.22 (C-4').

2.5. DPPH Radical 소거법을 이용한 항산화 실험

각 가용부와 단리화합물들을 적당한 농도로 희석한

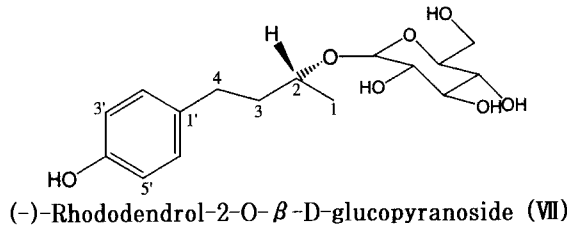
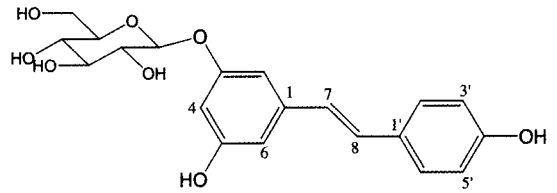
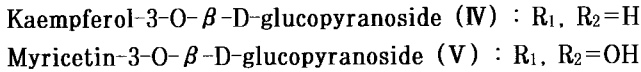
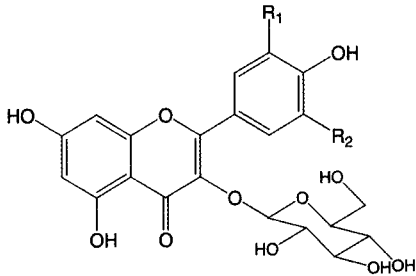
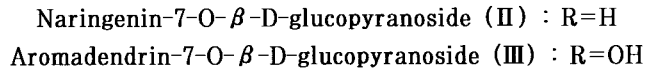
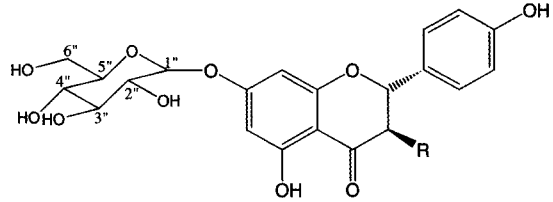
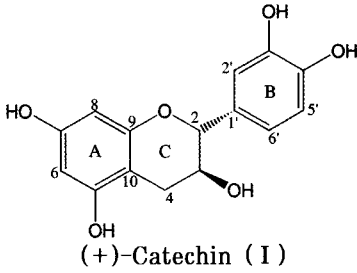
메탄올 용액 4 ml와 0.15 mM의 DPPH 1 ml를 섞은 후 상온에서 30분간 반응시킨 뒤 514 nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. 항산화 효과는 시료 무첨가 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC₅₀)로 나타내었다. 항산화력은 합성항산화제인 BHT와 천연항산화제인 α -tocopherol과 비교하면서 각 화합물 및 분획물의 IC₅₀을 구하여 항산화력이 우수한 물질을 탐색하고자 하였다.

3. 결과 및 고찰

구상나무 잎의 에틸아세테이트 가용부로부터 naringenin-7-O- β -D-glucopyranoside (II), aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside (III), kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (IV), polydatin (VI)을 단리 하였으며 전나무 잎의 에틸아세테이트 가용부로부터 (+)-catechin (I), aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside (III), kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (IV), myricetin-3-O- β -D-glucopyranoside (V), (-)-rhododendrol-2-O- β -D-glucopyranoside (VII)를 단리 하였다. (+)-catechin은 노간주나무 잎의 추출성분(이 등, 2004)에서 보고한 바 있다.

3.1. 화합물(II)

화합물(II)는 노란색의 분말로서 구상나무 잎의 에틸아세테이트 분획에서 단리 되었으며 R_f 값은 0.63 (solvent A)과 0.68 (solvent B)이었다. 이 화합물은 aglycone이 naringenin으로서 그 C-7에 glucose가 결합을 하고 있는 형태의 구조이다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.33 ppm의 signal은 C환의 H-2에 해당하는 것으로 Prescott 등(2002)이 보고한 naringenin의 signal과 동일한 형태를 보여주고 있다. 두 개의 H-3은 각각 2.72 ppm (equatorial)와 3.11 ppm (axial)에서 double doublet으로 나타나고 있으며 J 값은 vicinal 수소에 의해 2.58 Hz와 12.64 Hz의 값을 나타내며 geminal 수소에 의해서는 17.08 Hz와 17.12 Hz의 값을 나타내고 있다(Lee 등, 2003). $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-2와 C-3은 각각 82.55 ppm과 43.89 ppm에서 signal을 나타내며 C-3이 flavan류 화합물



들의 그것보다 크게 upfield된 것은 수산기가 결합하고 있지 않다는 증거이며 이것은 flavanone 화합물의 C환의 전형적인 signal이다. Carbonyl 탄소인 C-4는 198.12 ppm에서 특징적인 signal을 나타내고 있다 (Yaipakdee and Larry, 2001). 또한, ¹H-NMR 스펙트럼에서 7.29 ppm ($J = 8.51$ Hz)과 6.81 ppm ($J = 8.50$ Hz)의 doublet signal은 B환의 H-2', 6'과 H-3', 5'에 해당하는 것으로 대칭 형태임을 알 수 있다. 여기에 해당하는 ¹³C-NMR 스펙트럼의 C-2', 6' 및 C-3', 5'은 129.08 ppm과 116.37 ppm에서 하나의 signal로서 나타내고 있다. 이것은 Bilia 등(1993)이 보고한 페놀 B환의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR과 동일한 값을 나타내고 있다.

한편, ¹H-NMR 스펙트럼의 5.96 ppm에서 나타나는 singlet signal은 phloroglucinol A환의 H-6과

H-8에 해당하는 것으로 glucose가 C-7에 결합을 하고 있기 때문에 함(2000)이 보고한 naringenin의 배당체인 salipurposide보다 0.16 ppm과 0.51 ppm upfield되어 나타나고 있다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 C-6과 C-8은 96.43 ppm과 96.38 ppm에서 나타나고 있으며, 특히 C-7과 *para* 위치인 C-10의 signal이 salipurposide보다 4 ppm 정도 upfield되어 나타나고, C-4가 5 ppm 정도 downfield되어 나타나고 있는 것으로써 C-7에 glucose가 결합되어 있는 것을 알 수 있었다. C-7에 결합을 하고 있는 glucose의 H-1''은 4.78 ppm에서 doublet으로 나타나고 있으며, J 값이 9.93 Hz인 것으로 β -D-glucose의 형태임을 알 수 있었다.

이상의 결과들은 Agrawal(1989)이 발표한 화합물과 일치하고 있으며 FAB-MS 분석도 $[M+H]^+$ m/z

435로서 이 화합물의 분자량 434와 정확하게 일치하였다.

3.2. 화합물(III)

화합물(III)은 노란색의 분말로서 구상나무와 전나무 잎의 에틸아세테이트 분획에서 단리 하였으며 R_f 는 0.43 (solvent A)과 0.72 (solvent B)였다. 이 화합물은 aglycone이 flavanone 화합물인 aromadendrin으로서 C-7에 glucose가 결합을 하고 있는 형태의 구조이다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 B환은 페놀환의 형태이기 때문에 H-2', 6'과 H-3', 5'이 서로 대칭형태로서 각각 7.35 ppm ($J = 8.55$ Hz)과 6.83 ppm ($J = 8.44$ Hz)에서 하나의 signal로 나타나고 있으며 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-2', 6'과 C-3', 5'은 130.43 ppm과 116.14 ppm에서 하나의 signal로서 대칭 형태를 보여주고 있다. 이것은 Shen 등(1985)이 보고한 화합물과 동일한 형태를 보여주고 있다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼의 5.01 ppm과 4.59 ppm의 doublet signal은 H-2와 3에 해당하는 것으로 J 값이 각각 11.76 Hz, 11.65 Hz이었으며 서로 *trans* 구조를 갖는 flavanonol H-2와 3의 특징적인 signal이다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-2와 C-3이 85.13 ppm과 73.77 ppm에서 signal을 주는 것은 단일 결합을 하고 있으며 C-3에 OH기가 결합되어 있는 flavanonol의 전형적인 C환의 구조임을 알 수 있다. 이상은 Rawat 등(1998)과 Bilia 등(1993)이 보고한 aromadendrin과 동일하였다.

한편, $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 C-5, C-7, C-9는 각각 164.76 ppm, 167.30 ppm, 164.27 ppm에서 signal을 주고 있는데, C-7이 1.02 ppm upfield되어 나타나고 C-10이 103.49 ppm에서 aromadendrin보다 2.00 ppm downfield되어 나타나는 것으로서 glucose가 C-7에 결합을 하고 있는 것을 알 수 있었다. Agrawal (1989)은 glucose가 C-7 또는 C-3'이나 C-4'의 위치에 결합할 경우 *ipso* 위치의 탄소는 0.2~2 ppm 정도 upfield로 이동되고 *ortho* 위치의 탄소는 반대로 0.2~2 ppm 정도 downfield로 이동되며 *para* 위치의 탄소는 이보다 큰 3.0~5.0 ppm 정도가 downfield되므로 glucose의 위치를 결정지을 수 있다

고 보고하였다.

이상의 결과는 함(2000)과 Slimestad 등(1994)이 보고한 화합물의 data와 일치하였으며 FAB-MS 분석은 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 451로서 이 화합물의 분자량 450과 일치하고 있다.

3.3. 화합물(IV)

화합물(IV)은 노란색 분말로서 구상나무와 전나무 잎의 에틸아세테이트 분획에서 단리 되었으며 R_f 는 0.58 (solvent A), 0.22 (solvent B)였다. 이 화합물은 aglycone이 flavonol 화합물인 kaempferol로서 C-3에 glucose가 결합을 하고 있는 구조이다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 6.19 ppm과 6.38 ppm의 signal은 phloroglucinol A환의 H-6과 8에 해당되며 8.05 ppm과 6.88 ppm의 signal은 대칭 구조인 B환의 H-2', 6'과 H-3', 5'에 해당하는 것으로서 서로 *ortho* coupling 되어 J 값이 각각 8.76 Hz, 8.57 Hz를 나타내고 있다. 이에 대한 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼은 A환의 C-6과 8이 100.00 ppm과 94.85 ppm에서 특징적인 signal을 보이며 B환의 C-2', 6'과 C-3', 5'은 132.32 ppm과 116.10 ppm에서 하나의 signal을 보이는 것으로 대칭구조임을 알 수 있었다. 이상은 Ho 등(2002)이 콩잎의 butanol 분획물에서 단리한 kaempferol 화합물과 일치하였다.

한편, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.24 ppm의 doublet signal은 C-3에 결합된 glucose의 H-1"의 피크로서 J 값이 7.06 Hz인 것으로 β -D-glucose임을 알 수 있었고 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-1"의 signal은 104.16 ppm에서 downfield되어 나타나고 있다. C환의 C-2와 C-3은 flavanone 화합물보다 downfield되어 158.53 ppm과 135.49 ppm에서 signal을 주는 것으로 이중결합을 하고 있다는 것을 알 수 있으며 특히 kaempferol의 C-2와 3 보다 각각 8 ppm과 3 ppm downfield된 것으로서 glucose가 C-3에 결합되어 있는 것을 알 수 있었다.

이상은 Johnson 등(2002)이 보고한 kaempferol 배당체 화합물과도 일치하였으며 FAB-MS 분석은 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 449로서 이 화합물의 분자량 448과 일치하였다.

3.4. 화합물(V)

화합물(V)은 노란색 분말로서 전나무 잎의 에틸아세테이트 분획에서 단리 되었으며 R_f 는 0.52 (solvent A), 0.59 (solvent B)였다. 이 화합물은 aglycone이 myricetin으로서 C-3에 glucose가 결합을 하고 있는 구조이다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 6.20 ppm과 6.38 ppm의 signal은 phloroglucinol A환의 H-6과 8로서 *meta* coupling에 의해 J 값이 1.98 Hz, 2.07 Hz인 doublet의 피크를 주고 있으며 7.30 ppm의 강한 피크는 B환이 pyrogallol의 형태로 H-2'과 6'이 서로 대칭임을 나타내고 있다. 이에 대한 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 A환의 C-6과 8은 99.95 ppm과 94.72 ppm에서 특징적인 피크를 주고 있으며 B환의 C-2', 6'과 C-3', 5'은 각각 110.02 ppm과 146.35 ppm에서 대칭되는 하나의 signal을 주고 있다. 이상은 함(2000)이 발표한 myricetin의 NMR 데이터와 일치하고 있다. 또한, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.24 ppm의 signal은 C-3에 결합되어 있는 glucose의 H-1"로서 다른 glucose의 수소들에 비해 downfield되어 doublet으로 나타나고 있으며 J 값이 7.63 Hz인 것으로 β -D-glucose임을 알 수 있으며 나머지 glucose의 수소들이 3.30~3.74 ppm에서 복잡한 multiplet의 signal을 나타내고 있다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 104.52 ppm의 signal은 glucose의 C-1"의 피크로서 C-3과의 결합으로 downfield되어 나타나고 있으며 나머지 glucose의 탄소들은 60~80 ppm에서 전형적인 signal을 나타내고 있다.

한편, C-2와 C-3은 159.04 ppm과 135.84 ppm에서 signal을 주고 있고, C-2가 함(2000)이 발표한 myricetin보다 10 ppm downfield된 것으로써 glucose가 C-3에 결합하고 있는 것을 알 수 있었으며 carbonyl 탄소인 C-4는 인접한 C-2, 3의 이중결합과 C-3의 glucose 영향으로 flavanone 화합물보다 20 ppm upfield되어 179.46 ppm에서 나타나는 것을 볼 수 있다.

이상은 Braca 등(2000)이 *Licania densiflora*의 잎에서 보고한 myricetin 배당체 및 Mahmoud 등(2001)이 *Eugenia jambolana*의 잎에서 보고한 myricetin 배당체와 일치하였으며, FAB-MS 분석은 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 481로서 이 화합물의 분자량 480과 일치하였다.

3.5. 화합물(VI)

화합물(VI)은 흰색의 결정으로 구상나무 잎의 에틸아세테이트 분획에서 많은 양이 단리 되었으며 R_f 는 0.29 (solvent A), 0.28 (solvent B)이었다. 이 화합물은 stilbene 화합물인 resveratrol의 C-3에 glucose가 결합한 형태로서 polydatin 또는 piceid라고도 하며 NMR 스펙트럼은 Teguo 등(1996)이 보고한 화합물과 비교 분석하였다.

$^1\text{H-NMR}$ 에서 7.33 ppm과 6.26 ppm의 signal은 페놀환의 H-2', 6'과 H-3', 5'에 해당하는 것으로 대칭 구조임을 알 수 있고, 두 개의 환을 이중 결합으로 연결하고 있는 methine 탄소의 H-7과 H-8은 각각 6.83 ppm과 7.00 ppm에서 doublet signal을 보여주고 있으며 J 값이 16.29 Hz와 16.27 Hz인 것으로 서로 *trans* 구조임을 알 수 있었다. 또한, glucose가 C-3에 결합하고 있기 때문에 페놀환의 H-2, 4, 6은 *meta* coupling에 의해서 각각 6.78 ppm, 6.44 ppm, 6.61 ppm에서 doublet signal을 주고 있으며 glucose의 H-6"의 두 개의 수소가 각각 3.92(a) ppm과 3.70(b) ppm에서 H-5"의 영향으로 double doublet으로 보이고 있는데, J 값은 vicinal 수소에 의해서 2.01 Hz와 5.75 Hz의 값을 나타내며 geminal 수소에 의해서는 12.08 Hz와 12.01 Hz의 값을 나타내고 있다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 129.31 ppm과 116.88 ppm의 signal은 C-2', 6'과 C-3', 5'이 대칭 구조임을 나타내는 것이며 이중결합을 하고 있는 methine 탄소인 C-7과 C-8은 각각 127.05 ppm과 130.37 ppm에서 특징적인 signal을 나타내고 있다. C-3은 glucose가 결합되어 160.86 ppm으로 2.00 ppm downfield되어 나타나고 있으며, *para* 위치의 C-6은 108.73 ppm에서 4 ppm downfield되었고, *ortho* 위치의 C-2와 C-4는 각각 107.39 ppm과 104.47 ppm으로 3.00 ppm과 4.00 ppm downfield되어 나타나고 있는 것으로서 glucose가 C-3에 결합하고 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과는 Wanjala와 Majinda (2001)가 *E. goetzei*의 뿌리에서 단리하여 보고한 resveratrol-3-O-rutinoside의 data와 비교 분석하였으며 FAB-MS 분석은 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 391로서 이 화합물의 분자량 390과 일치하였다.

Table 1. Antioxidation activities of the fractionated extractives and isolated compounds from the needles of *Abies koreana* Maximowicz and *Abies holophylla* Wilson

	Sample	IC ₅₀ (μg)
Control	BHT	12 μg
	α-tocopherol	14 μg
Crude and fractionated extractives of the needles of <i>Abies koreana</i>	Crude extractive	-
	Hexane soluble fraction	-
	CH ₂ Cl ₂ soluble fraction	-
	EtOAc soluble fraction	-
	H ₂ O soluble fraction	-
Crude and fractionated extractives from the needles of <i>Abies holophylla</i>	Crude extractive	-
	Hexane soluble fraction	45 μg
	CH ₂ Cl ₂ soluble fraction	38 μg
	EtOAc soluble fraction	42 μg
	H ₂ O soluble fraction	32 μg
Isolated compounds from the needles of <i>Abies koreana</i> and <i>Abies holophylla</i>	(+)-Catechin	11 μg
	Naringenin-7-O-β-D-glucopyranoside	-
	aromadendrin-7-O-β-D-glucopyranoside	-
	kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside	-
	myricetin-3-O-β-D-glucopyranoside	-
	polydatin	34 μg
	(-)-rhododendrol-2-O-β-D-glucopyranoside	-

3.6. 화합물(VII)

화합물(VII)은 흰색의 결정으로 전나무 잎의 에틸아세테이트 분획에서 단리 되었으며 R_f는 0.72 (solvent A)와 0.85 (solvent B)였다. 이 화합물은 페놀환의 C-1에 butanol이 측쇄구조로 연결되어 있는 rhododendrol의 C-2위치에 glucose가 결합을 하고 있는 화합물로서 ¹H-NMR 스펙트럼에서 7.03 ppm과 6.63 ppm의 doublet signal은 대칭을 구조인 H-2', 6'과 H-3', 5'에 해당하는 것으로 J 값이 각각 8.40과 8.42 Hz인 것으로써 두 개의 수소가 ortho coupling되어 있음을 알 수 있다. C-3의 두 개의 수소는 인접한 C-4의 두 개의 수소와 C-2의 수소의 영향으로 1.86 ppm과 1.68 ppm에서 각각 multiplet으로 나타나고 C-4의 두 개의 수소는 C-3의 두 개의 수소의 영향으로 2.61 ppm

에서 multiplet으로 나타나고 있으며 C-2의 수소는 C-3의 수소의 영향으로 3.89 ppm에서 glucose의 signal과 겹쳐서 multiplet으로 나타나고 있다. C-1에 해당하는 methyl기 수소는 1.19 ppm에서 전형적인 signal을 나타내고 있는데, 여기에 해당하는 C-2와 methyl기의 C-1의 signal은 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 각각 74.12 ppm과 18.95 ppm에서 나타나고 있다. Pan과 Lundgren (1994)은 (+)-rhododendrol과 (-)-rhododendrol의 glucoside 배당체를 입체화학적으로 비교 분석하였는데, ¹H-NMR에서 C-2의 수소는 (-)-rhododendrol이 약 0.1 ppm 정도 downfield되고 methyl기의 수소는 약 0.1 ppm 정도 upfield된다고 하였으며, ¹³C-NMR에서는 (-)-rhododendrol의 C-1과 C-2가 약 2 ppm 정도 upfield되는 차이가 있다고 보고하였다. 따라서 이 화합물의 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR

스펙트럼에서는 (-)-rhododendrol과 일치하고 있다.

¹³C-NMR 스펙트럼에서 129.40 ppm과 115.01 ppm이 피크는 페놀환의 C-2', 6'과 C-3', 5'에 해당 하는 것으로 서로 대칭이기 때문에 하나의 큰 피크를 나타내고 있으며, 수산기가 결합되어 있는 C-4'은 155.22 ppm에서 특징적인 피크를 주고 있고 측쇄구조에 결합되어 있는 C-1'은 133.67 ppm에서 나타나고 있다. 이상은 Fujita 등(1995)과 Das 등(1993)이 보고한 화합물과 일치하였다.

한편, ¹H-¹H COSY와 ¹H-¹³C HETCOR 스펙트럼을 분석하여 인접한 수소와의 상관관계 및 탄소에 결합하고 있는 수소를 확인하여 정확한 구조를 규명할 수 있었다. 또한, EI-MS 분석은 [M]⁺ m/z 328로서 이 화합물의 분자량 328과 일치하였다.

3.7. 분획물 및 단리 화합물의 항산화능

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

조추출물은 항산화 효능이 나타나지 않았고 전나무 잎 추출물의 각 분획물에서 항산화 효능이 있는 것으로 나타났다. 단리된 화합물중에서는 (+)-catechin이 기준물질과 비슷한 우수한 항산화 효능을 나타내었고, 스틸벤 배당체인 polydatin도 항산화 효능이 있는 것으로 나타났다.

4. 결 론

구상나무와 전나무 잎의 에틸아세테이트 가용부를 sephadex LH-20으로 충전한 칼럼크로마토그래피를 실시하여 비교적 다양한 종류의 화합물을 단리 하였다. 구상나무에서는 naringenin-7-O- β -D-glucopyranoside (106 mg), aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside (1.5 g), kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (181 mg), polydatin (1.5 g)을 단리 하였고, 전나무에서는 (+)-catechin (76 mg), aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside (55 mg), kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (6.3 mg), myricetin-3-O- β -D-glucopyranoside (11.6 mg), (-)-rhododendrol-2-O- β -D-glucopyranoside (527 mg)을 단리 하였다. 단리된 양으로 보아 aromadendrin-7-O- β -D-glucopyranoside, polydatin, 그리고 (-)-rhododendrol-2-O- β -D-glucopyranoside가 구상나무와 전나무의 주성분으로 생각되어진다.

DPPH radical 소거법을 이용한 항산화 실험에서 전나무의 각 분획물 및 (+)-catechin, polydatin에서 효능을 나타내었으며 특히, (+)-catechin의 경우 기준물질과 비슷한 항산화 효능을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. 김태욱. 1996. 한국의 수목. 교학사. pp.49.
2. 이창복. 1985. 대한식물도감. 향문사. pp.59~68.
3. 함연호. 2000. 사시나무屬과 버드나무屬 主要 樹種 樹皮의 抽出成分에 關한 研究, 강원대학교 박사학위논문.
4. Agrawal, P. K. 1989. Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier.
5. Bilia, A. R., S. Catalano, L. Pistelli, and I. Morelli. 1993. Flavonoids from *Pyracantha coccinea* roots. *Phytochemistry*. 33(6): 1449~1452.
6. Braca, A., A. R. Bilia, J. Mendez, and I. Morelli. 2000. Myricetin glycosides from *Licania densiflora*. *Fitoterapia*. 72: 182~185.
7. Das, B., S. P. Rao, K. V. N. S. Srinivas, and J. S. Yadav. 1993. Stereospecific Synthesis and Absolute Configuration of (+)-Rhododendrol. *Phytochemistry*. 33(6): 1529~1530.
8. Fujita, T., H. Hatamoto, T. Iwasaki, and S. Takafuji. 1995. Bioconversion of Rhododendrol by *Acer Nikoense*. *Phytochemistry*. 39(5): 1085~1089.
9. Ho, H. M., R. Y. Chen, L. K. Leung, F. L. Chan, Y. Huang, and Z. Y. Chen. 2002. Difference in flavonoid and isoflavone profile between soybean and soy leaf. *Biomed Pharmacother*. 56: 289~295.
10. Johnson, E. L., W. F. Schmidt, and D. Cooper. 2002. Flavonoids as chemotaxonomic markers for cultivated Amazonian coca. *Plant Physiology and Biochemistry*. 40: 89~95.
11. Lee, M. K., S. S. Moon, S. E. Lee, S. H. Bok, T. S. Jeong, Y. B. Park, and M. S. Choi. 2003. Na-

- ringenin-7-O-cetyl Ether as Inhibitor of HMG-CoA Reductase and Modulator of Plasma and Hepatic Lipids in High Cholesterol-Fed Rats. *Bioorganic & Medicinal Chemist.* 11: 393~398.
12. 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.* 58: 1239~1244.
 13. Pan, H and L. N. Lundgren. 1994. Rhododendrol Glycosides and Phenyl Glucoside Esters from Inner Bark of *Betula Pubescens*0. *Phytochemistry.* 36(1): 79~83.
 14. Prescott, A. G., N. P. J. Stamford, G. Wheeler, and J. L. Firmin. 2002. In vitro properties of a recombinant flavonol synthase from *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry.* 60: 589~593.
 15. Rawat, M. S. M., G. Pant, D. Prasad, R. K. Joshi, and C. B. Pande. 1998. Plant growth inhibitors (Proanthocyanidins) from *Prunus armeniaca*. *Biochemical Systematics and Ecology.* 26: 13~23.
 16. Shen, Z. and O. Theander. 1985. Flavonoid glycosides from needles of *Pinus massoniana*. *Phytochemistry.* 24(1): 155~158.
 17. Slimestad, R., Q. M. Andersen, and G. W. Francis. 1994. Ampelopsin 7-Glucoside and other Dihydroflavonol 7-Glucosides from Needles of *Picea Abies*. *Phytochemistry.* 35(2): 550~552.
 18. Teguo, P. W., A. Decendit, J. Vercauteren, G. Deffieux, and J. M. Merillon. 1996. *Trans*-Resveratrol-3-O- β -Glucoside(Piceid) in Cell Suspension Cultures of *Vitis Vinifera*. *Phytochemistry.* 42(6): 1591~1593.
 19. Wanjala, C. C. W. and R. R. T. Majinda. 2001. A new stilbene glycoside from *Elephantorrhiza goetzei*. *Fitoterapia.* 72: 649~655.
 20. Yaipakdee, P. and L. Robertson. 2001. Enzymatic halogenation of flavanones and flavones. *Phytochemistry.* 57: 341~347.