

## 가래나무 수피의 페놀성 화합물\*1

김진규\*2 · 사전령\*3 · 배영수\*2†

### Phenolic Compounds from Bark of *Juglans mandshurica*\*1

Jin-Kyu Kim\*2 · Chuan-Ling Si\*3 · Young-Soo Bae\*2†

#### 요약

가래나무 수피를 채취하여 건조시킨 후 분말로 제조하고 3.2 kg을 아세톤-물(7:3, v/v) 혼합용액으로 추출하여 유기용매를 제거한 후 핵산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 물을 사용하여 네 개로 분획하고 에틸아세테이트 및 수용성 분획물에 대하여 칼럼 크로마토그래피를 수행하였으며 용리용매로는 메탄올 수용액과 에탄올-핵산 혼합액을 사용하였다. 그 결과 flavanol 화합물인 pinobanksin, taxifolin 및 ampelopsin, flavonol 화합물인 kaempferol, quercetin 및 myricetin과 flavone glycoside 화합물인 afzelin, astragalin, quercitrin, isoquercitrin 및 myricitrin을 분리하였으며 NMR 및 MS 스펙트럼을 이용하여 구조를 결정하였다.

#### ABSTRACT

*Juglans mandshurica* barks were collected, extracted with acetone-H<sub>2</sub>O (7/3, v/v), fractionated with *n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, and EtOAc, and freeze dried to give some dark brown powder. The EtOAc and H<sub>2</sub>O soluble fractions were chromatographed on a Sephadex LH-20 column using H<sub>2</sub>O-MeOH and EtOH-hexane mixture as eluents. Spectrometric analysis such as NMR and MS, including TLC, were performed to characterize the structures of the isolated compounds. From the EtOAc and H<sub>2</sub>O soluble fractions, three flavanols (1~3), three flavonols (4~6) and five flavonol glycosides (7~11) were isolated and elucidated.

\* 1 접수 2006년 9월 25일, 채택 2006년 11월 1일

본 연구의 일부는 산림청 기초과학지원연구사업 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부임.

\* 2 강원대학교 산림과학대학 임산공학과, Dept. of Wood Science & Engineering, College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\* 3 천진과학기술대학교 천진 펄프·제지 중점실험실 Tianjin Key laboratory of Pulp & Paper, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300222, China.

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

**Keywords:** phenolic compounds, flavonoid glycosides, *Juglans mandshurica*, NMR, Sephadex LH-20

## 1. 서 론

가래나무(*Juglans mandshurica* Maximowicz)는 가래나무과(Juglandaceae)에 속하는 낙엽교목(落葉喬木)으로 중국, 시베리아, 우리나라 중부이북 해발 100~1500 m 사이에 자생하며 추자목(楸子木)이라고도 하고 열매를 추자(楸子)라 한다. 산기슭의 양지쪽에서 자라며 높이가 20 m 정도이며 나무껍질은 암회색이며 세로로 터진다. 잎은 홀수깃꼴겹잎이다. 작은 잎은 7~17개이며, 긴 타원형 또는 달걀 모양 타원형으로 길이 7~28 cm, 나비 10 cm 정도이다. 잔 톱니가 있고 앞면은 잔털이 있으나 점차 없여지고, 뒷면은 털이 있거나 없는 것도 있으며 잎맥 위에 선모(腺毛)가 있다(이, 1997).

변재는 회백색, 심재는 회갈색으로 질이 치밀하고 질기며 뒤틀리지 않아 가구재, 기계재, 총대 및 조각재로 쓰인다. 한방에서는 봄에서 가을 사이에 수피를 채취하여 말린 것을 추피(楸皮)라 하여 수렴과 해열, 항염증, 약창, 두창, 옹종 등 피부병에 사용하였다. 또한, 잎은 살충약 및 포도당의 섭취 능력을 높여주는 작용이 있어 당뇨병에 이용하였다(임, 1999; 문, 1999). 하지만 가래나무는 상대적으로 다른 약용수목보다 성분에 대한 연구가 미진하였다. 보고된 성분연구는 주로 근피(根皮)가 대부분이었으며 diarylheptanoid, triterpene, sesquiterpene, naphthoquinone, tetralone glucoside, naphthalene carboxylic acid glucoside, naphthalenyl glycoside 및 quinone계 화합물들이 지금까지 보고되었다(Son 등, 1995; Joe 등, 1996; Kim 등, 1998; Lee 등, 1999, 2002; Li 등, 2003, 2004). 본 연구에서는 약리효능은 있지만 추출성분에 대한 연구가 미진한 가래나무 수피로부터 flavonoid 및 배당체 화합물을 분리하여 구조를 규명하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

2005년 5월 강원도 춘천시 동산면 봉명리 소재의 강원대학교 학슬림에서 가래나무의 수피를 채취하여 2주간 건조한 후 분쇄기를 사용하여 추출용 재료로 사용하였다.

### 2.2. 추출물의 분획

기건 된 가래나무 수피 분말 3.2 kg을 15 l의 유리용기에 넣고 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용액에 침지하여 1주일간 상온에서 추출한 후 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 농축된 추출물은 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성으로 순차적으로 분획하였으며, 각각의 분획물은 동결 건조하여 헥산(*n*-hexane) 용성 15.6 g, 메틸렌클로라이드(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 용성 20.6 g, 에틸아세테이트(EtOAc) 용성 130.0 g, 수용성 화합물 237.6 g을 얻었다.

### 2.3. 칼럼크로마토그래피

EtOAc와 H<sub>2</sub>O용성 분획물로부터 순수한 단일 화합물을 분리하기 위하여 칼럼크로마토그래피를 수행하였다. 충전물질은 Sigma사의 Sephadex LH-20, 용리용매는 메탄올-물 및 에탄올-헥산 혼합용액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector (Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았으며 칼럼이 거의 무색에 가까워지면 아세톤-물(1:1, v/v) 혼합액으로 칼럼을 세척하였다.

화합물의 정제 여부를 확인하기 위해 셀룰로오스 박층크로마토그래피(TLC)를 실시하였다. TLC는 Merck사의 DC-Plastikfolien cellulose F (Art.

5565)를, 전개용매는 *t*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O (3:1:1, v/v/v, solvent A)와 6% HOAc (solvent B)를 사용하였다. 전개된 화합물은 UV램프(254 nm, 354 nm)로 관찰한 후, 1% FeCl<sub>3</sub> (EtOH)의 발색제를 분무 가열하여 반응하는 색을 확인하였다.

## 2.4. 화합물의 단리

가래나무 수피의 EtOAc용성 추출물 32.0 g을 유리칼럼에 주입하고 용리용매로 MeOH-H<sub>2</sub>O (4:1, v/v)을 사용하여 1차 분리를 실시하여 5개의 fraction으로 분리하고 JMBE로 명명하였다. 농축 후 동결건조된 양은 JMBE-1 1.06 g, JMBE-2 17.1 g, JMBE-3 7.9 g, JMBE-4 3.2 g, JMBE-5 2.3 g을 얻었다.

JMBE-3을 MeOH-H<sub>2</sub>O (2:1, 1:2, 1:5, v/v)과 EtOH-Hexane (3:2, v/v)로 column chromatography를 수행하여 화합물 1 (aromadendrin, 20 mg), 화합물 2 (taxifolin, 64 mg), 화합물 3 (ampelopsin, 84), 화합물 8 (astragalin, 64 mg) 및 화합물 10 (isoquercitrin, 15 mg)을 얻었다.

JMBE-1은 MeOH-H<sub>2</sub>O (2:1, 1:3, v/v)의 혼합용액으로 분리하여 화합물 6 (myricetin, 12 mg)과 화합물 7 (afzelin, 40 mg)을 얻었다.

또한, 수용성 분획물 31.5 g을 MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1, v/v)의 용리용매를 사용하여 1차 분리를 실시하여 4개의 fraction으로 분리하고 JMBW로 명명하였으며 동결 건조된 양은 JMBW-1 24.2 g, JMBW-2 1.8 g, JMBW-3 2.4 g, JMBW-4 3.0 g을 얻었다.

JMBW-1을 MeOH-H<sub>2</sub>O (1:3, 1:5, 3:1, v/v)의 혼합용액으로 분리하여 화합물 4 (kaempferol, 26 mg), 화합물 5 (quercetin, 30 mg), 화합물 9 (quercetrin, 22 mg) 및 화합물 11 (myricetrin, 18 mg)을 분리하였다.

## 2.5. 추출물의 구조분석

분리된 화합물의 구조분석은 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker Avance DPX 400 MHz NMR기

기를 사용하여 <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼을 측정하였고, 분석용매로는 CD<sub>3</sub>OD를 사용하였다. 분리된 화합물의 분자량은 Micromass Autospec M363 질량분석기기를 사용하였으며 EI-MS와 Positive FAB-MS를 이용하여 분자량을 측정하였다. 단리된 화합물의 R<sub>f</sub>, NMR 및 MS 값은 다음과 같다.

### 2.5.1. 화합물 1 (aromadendrin)

R<sub>f</sub> : 0.89 (solvent A) 및 0.40 (solvent B). EI-MS : *m/z* [M]<sup>+</sup> 288. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 4.54 (1H, *d*, *J* = 11.6 Hz, H-3), 4.97 (1H, *d*, *J* = 11.6 Hz, H-2), 5.88 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.92 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.83 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3',5'), 7.35 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2',6'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 1.

### 2.5.2. 화합물 2 (taxifolin)

R<sub>f</sub> : 0.76 (solvent A) 및 0.40 (solvent B). EI-MS : *m/z* [M]<sup>+</sup> 304. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 4.50 (1H, *d*, *J* = 11.6 Hz, H-3), 4.91 (1H, *d*, *J* = 11.6 Hz, H-2), 5.88 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.92 (1H, *d*, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.80 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.89 (1H, *dd*, *J* = 8.1 Hz and *J* = 1.9 Hz, H-6'), 6.97 (1H, *d*, *J* = 1.9 Hz, H-2'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 1.

### 2.5.3. 화합물 3 (ampelopsin)

R<sub>f</sub> : 0.65 (solvent A) 및 0.40 (solvent B). EI-MS : *m/z* [M]<sup>+</sup> 320. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 4.47 (1H, *d*, *J* = 11.3 Hz, H-3), 4.84 (1H, *d*, *J* = 11.3 Hz, H-2), 5.88 (1H, *d*, *J* = 2.3 Hz, H-6), 5.92 (1H, *d*, *J* = 2.3 Hz, H-8), 6.54 (2H, *s*, H-2',6'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 1.

### 2.5.4. 화합물 4 (kaempferol)

R<sub>f</sub> : 0.65 (solvent A) 및 0.02 (solvent B). EI-MS

Table 1. <sup>13</sup>C-NMR spectroscopic data for compounds 1-6 in CD<sub>3</sub>OD

	1	2	3	4	5	6
2	85.37	85.12	85.70	148.42	147.41	148.02
3	74.04	74.03	74.10	137.52	137.13	137.39
4	198.93	198.73	198.73	177.73	176.97	177.30
5	165.71	165.63	165.71	162.87	162.64	162.50
6	97.34	97.34	97.71	99.67	99.55	99.23
7	169.10	169.13	169.11	165.93	165.53	165.58
8	96.70	96.63	96.69	94.88	94.83	94.39
9	164.96	164.65	164.87	158.62	158.12	158.20
10	102.27	102.28	102.23	104.94	104.44	104.51
1'	129.69	129.69	129.50	124.13	124.08	123.10
2'	130.80	115.79	108.46	131.08	116.09	108.52
3'	116.56	146.53	147.29	116.70	146.30	146.73
4'	159.62	147.61	135.33	160.91	148.79	136.95
5'	116.56	116.51	147.29	116.70	116.56	146.73
6'	130.80	120.79	108.46	131.08	121.83	108.52

:  $m/z$  [M]<sup>+</sup> 286. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 6.18 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.40 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-8), 6.90 (2H,  $d$ ,  $J$  = 8.9 Hz, H-3', 5'), 8.08 (2H,  $d$ ,  $J$  = 8.9 Hz, H-2', 6'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 1.

#### 2.5.5. 화합물 5 (quercetin)

$R_f$  : 0.33 (solvent A) 및 0.02 (solvent B). EI-MS :  $m/z$  [M]<sup>+</sup> 302. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 6.18 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.38 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-8), 6.88 (1H,  $d$ ,  $J$  = 8.5 Hz, H-5'), 7.63 (1H,  $dd$ ,  $J$  = 2.2 Hz and  $J$  = 8.5 Hz, H-6'), 7.73 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.2 Hz, H-2'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 1.

#### 2.5.6. 화합물 6 (myricetin)

$R_f$  : 0.20 (solvent A) 및 0.02 (solvent B). EI-MS :  $m/z$  [M]<sup>+</sup> 318. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) :

6.18 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.38 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-8), 7.34 (2H,  $s$ , H-2', 6'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 1.

#### 2.5.7. 화합물 7 (afzelin)

$R_f$  : 0.84 (solvent A) 및 0.47 (solvent B). Positive FAB-MS :  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 433. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 0.93 (3H,  $d$ ,  $J$  = 5.7 Hz, H-6''), 3.35~4.28 (4H,  $m$ , H-2'', 3'', 4'', 5''), 5.38 (1H,  $d$ ,  $J$  = 1.6 Hz, H-1''), 6.20 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.37 (1H,  $d$ ,  $J$  = 2.0 Hz, H-8), 6.94 (2H,  $d$ ,  $J$  = 8.7 Hz, H-3', 5'), 7.76 (2H,  $d$ ,  $J$  = 8.7 Hz, H-2', 6'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 2.

#### 2.5.8. 화합물 8 (astragalin)

$R_f$  : 0.78 (solvent A) 및 0.23 (solvent B). Positive FAB-MS :  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 449. <sup>1</sup>H-NMR

Table 2. <sup>13</sup>C-NMR spectroscopic data for compounds 7-11 in CD<sub>3</sub>OD

	7	8	9	10	11
Aglycone					
2	158.53	159.10	159.33	159.04	158.53
3	136.41	135.49	136.27	135.65	136.27
4	179.60	179.53	179.66	179.51	179.69
5	163.17	163.07	163.22	163.06	163.22
6	99.87	99.91	99.84	99.91	99.83
7	165.87	165.98	165.86	166.01	165.88
8	94.82	94.79	94.75	94.90	94.71
9	159.53	158.50	158.53	158.48	159.47
10	105.94	105.76	105.93	105.72	105.90
1'	122.64	122.80	123.00	123.23	122.92
2'	131.94	132.33	116.52	116.03	109.61
3'	116.46	116.10	146.42	145.92	146.87
4'	161.56	161.60	149.81	149.87	137.91
5'	116.46	116.10	116.40	117.60	146.87
6'	131.94	132.33	122.92	123.21	109.61
Glucosyl unit					
1''	-	104.14	-	104.35	-
2''	-	75.77	-	75.75	-
3''	-	78.06	-	78.41	-
4''	-	71.36	-	71.24	-
5''	-	78.43	-	78.14	-
6''	-	62.65	-	62.58	-
Rhamnosyl unit					
1''	103.50	-	103.65	-	103.57
2''	72.12	-	72.15	-	75.15
3''	72.06	-	72.06	-	72.07
4''	73.19	-	73.29	-	73.38
5''	71.93	-	71.94	-	71.92
6''	17.67	-	17.69	-	17.70

(400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 3.20~3.50 (4H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5''), 3.67 (1H, *dd*, *J* = 5.5 Hz and 11.9 Hz, H<sub>b</sub>-6''), 3.87 (1H, *dd*, *J* = 2.2 Hz and *J* = 11.9 Hz, H<sub>a</sub>-6''), 5.24 (1H, *d*, *J* = 7.3 Hz, H-1''), 6.20 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-6), 6.39 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.89 (2H, *d*, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 8.05 (2H, *d*, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : Table 2.

#### 2.5.9. 화합물 9 (quercitrin)

R<sub>f</sub> : 0.66 (solvent A) 및 0.40 (solvent B). Positive FAB-MS : *m/z* [M+H]<sup>+</sup> 449. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$ , CD<sub>3</sub>OD) : 0.94 (3H, *d*, *J* = 6.0 Hz, H-6''), 3.35 (1H, *m*, H-4''), 3.43 (1H, *m*, H-5''), 3.75 (1H, *dd*, *J* = 3.3 and *J* = 9.3 Hz, H-3''), 4.22 (1H, *br d*, *J* = 3.0 Hz, H-2''), 5.35 (1H, *d*, *J* = 1.0

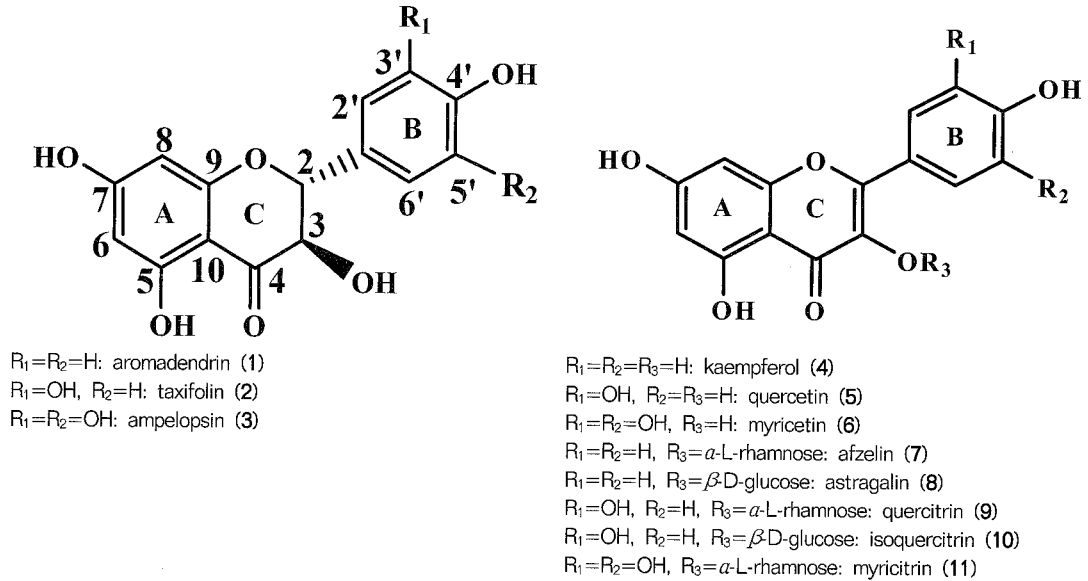


Fig. 1. Phenolic compounds from *J. mandshurica* bark.

Hz, H-1''), 6.19 (1H, *d*,  $J = 1.9$  Hz, H-6), 6.36 (1H, *d*,  $J = 1.9$  Hz, H-8), 6.85 (1H, *d*,  $J = 8.2$  Hz, H-5'), 7.30 (1H, *dd*,  $J = 8.2$  Hz and  $J = 1.9$  Hz, H-6'), 7.34 (1H, *d*,  $J = 1.9$  Hz, H-2').  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : Table 2.

#### 2.5.10. 화합물 10 (isoquercitrin)

$R_f$  : 0.65 (solvent A) 및 0.08 (solvent B). Positive FAB-MS :  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup> 465.  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : 3.23~3.73 (6H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 5.25 (1H, *d*,  $J = 7.4$  Hz, H-1''), 6.19 (1H, *d*,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.38 (1H, *d*,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.86 (1H, *d*,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 7.58 (1H, *dd*,  $J = 2.1$  and  $J = 8.5$  Hz, H-6'), 7.71 (1H, *d*,  $J = 2.1$  Hz, H-2').  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : Table 2.

#### 2.5.11. 화합물 11 (myricitrin)

$R_f$  : 0.57 (solvent A) 및 0.26 (solvent B). Positive FAB-MS  $m/z$  (M+H)<sup>+</sup> 465.  $^1\text{H-NMR}$  (400

MHz,  $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : 0.96 (3H, *d*,  $J = 6.2$  Hz, H-6''), 3.34 (1H, *m*, H-4''), 3.52 (1H, *dd*,  $J = 6.2$  and  $J = 5.5$  Hz, H-5''), 3.80 (1H, *dd*,  $J = 3.3$  and  $J = 9.5$  Hz, H-3''), 4.22 (1H, *s*, H-2''), 5.32 (1H, *s*, H-1''), 6.20 (1H, *d*,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 6.36 (1H, *d*,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.95 (2H, *s*, H-2', 6').  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\delta$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : Table 2.

### 3. 결과 및 고찰

가래나무 수피부의 EtOAc와  $\text{H}_2\text{O}$ 용성 분획 중에서 각각 32.0 g, 31.5 g을 칼럼크로마토그래피를 수행하여 Fig. 1과 같이 11개의 화합물을 분리·정제하여 NMR과 MS를 이용하여 구조를 구명하였다.

#### 3.1. Aromadendrin (1), taxifolin (2) 및 ampelopsin (3)

화합물 1은 연한 노란색으로 TLC 상에서는  $R_f$ 는 0.89 (solvent A)과 0.40 (solvent B)이었으며 1%

FeCl<sub>3</sub>에 양성으로 반응하였다.

<sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서  $\delta$  6.83과  $\delta$  7.35의 doublet ( $J = 8.5$  Hz) 피크는 B환의 H-2', 6'과 H-3', 5'이 대칭구조로 서로 *ortho* coupling 하고 있으며  $\delta$  4.97과  $\delta$  4.54의 doublet 피크들은 C환의 H-2와 H-3으로  $J$ 값이 11.6 Hz로 서로 *trans* 형태를 갖는 flavanonol의 특징적인 피크들이 나타났다.

또한, Table 1의 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 C-2와 C-3이  $\delta$  85.37과  $\delta$  74.04에서 나타난것은 C-3에 hydroxyl group이 결합되어있는 전형적인 flavanonol C환의 구조임을 알 수 있다. C-4의 carbonyl group이  $\delta$  198.93에서 나타나고 hydroxyl group이 결합되어 있는 C-7, 5, 9의 피크는 각각  $\delta$  169.10,  $\delta$  165.71,  $\delta$  164.96에서 downfield되어 나타나고 있다. 따라서 이 화합물은 phloroglucinol A환과 phenolic B환으로 구성되어 있는 flavanonol인 aromadendrin임을 알 수 있으며 Ham과 Bae (1995)가 보고한 값과도 일치하였으며 EI-MS로 측정된 분자량도  $m/z$  288로 이 화합물과 일치하여 화합물 1은 aromadendrin으로 규명하였다.

화합물 2는 황갈색의 분말로 TLC 상에서 R<sub>f</sub>는 0.76 (solvent A)과 0.40 (solvent B)이었으며 1% FeCl<sub>3</sub>에 양성으로 반응하였다. 화합물 1과 A환과 C환의 구조는 동일하지만 B환의 C-3'에 hydroxyl group이 결합한 구조를 갖고 있다. 따라서 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서  $\delta$  115.79,  $\delta$  116.51,  $\delta$  120.79에서 각각 C-2', 5', 6'이 보이며 C-3'은 화합물 1과 비교하여 약 30 ppm 정도 downfield되어 나타났다. 이상의 결과는 Harbone과 Mabry (1982)이 보고한 값과 동일하였다. 또한 EI-MS 값이  $m/z$  304로 이 화합물의 분자량과 일치하였다. 따라서 화합물 2는 taxifolin으로 구조를 규명하였다.

화합물 3은 B환이 pyrogallol 구조를 갖고 있어 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 H-2', 6'이 하나의 피크로 나타났으며 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서도 C-2', 6'과 C-3', 5'이 대칭인 구조로 인해 각각  $\delta$  108.46과  $\delta$  147.29에서 하나의 피크로 나타났다. 나머지 A환과 C환의 피크는 화합물 1, 2와 유사하게 나타났다. EI-MS 값이  $m/z$  304로 이 화합물의 분자량과 일치

하여 화합물 3은 ampelopsin로 구조를 규명하였다.

### 3.2. Kaempferol (4), afzelin (7) 및 astragalin (8)

화합물 4는 노란색의 분말로 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 B환의 H-2', 6'과 H-3', 5'가 서로 대칭인 구조로  $\delta$  8.08과  $\delta$  6.90에서 doublet ( $J = 8.9$  Hz)로 나타났으며 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼(Table 1)에서 C환의 C-2, 3, 4 피크가 각각  $\delta$  148.42, 137.52, 177.73에서 나타나 flavonol 화합물임을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Agrawal (1989)이 보고한 kaempferol의 값과 일치하였으며 EI-MS 값이  $m/z$  286으로 분자량도 일치하였다. 따라서 화합물 4는 kaempferol로 구조를 규명하였다.

화합물 7은 TLC상에서 R<sub>f</sub>는 0.83 (solvent A)과 0.48 (solvent B)이었으며 1% FeCl<sub>3</sub>에 양성으로 반응하였다. 이 화합물의 기본 구조는 화합물 4와 A환과 B환은 동일하지만 C환에 탄수화물이 결합되어 있는 구조다.

<sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼의  $\delta$  5.38의 doublet 피크는 C-3에 결합하고 있는 rhamnose의 anomeric proton인 H-1''으로  $J$ 값이 1.6 Hz로 *a* 형태의 입체구조를 갖고 있음을 알 수 있으며 나머지 rhamnose의 H-2'', 3'', 4'', 5''은  $\delta$  3.35~4.28에서 나타났으며 H-6''의 methyl기 3개의 수소는  $\delta$  0.93에서 doublet으로 전형적인 피크를 나타내고 있다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼(Table 2)에서 rhamnose C-1''은 aglycone의 C-3과 결합을 하고 있어 rhamnose의 나머지 탄소들보다 downfield되어  $\delta$  103.52 나타나고 C-2'', 3'', 4'', 5''은  $\delta$  72.14,  $\delta$  72.06,  $\delta$  73.22,  $\delta$  71.95에 나타나고 있고 methyl기 탄소는  $\delta$  17.69에서 보이고 있는데 이것은 Agrawal (1989)이 보고한 afzelin의 rhamnose의 NMR값과 동일하였다. 또한,  $\delta$  158.53과  $\delta$  136.41의 피크는 C-2와 C-3에 해당하는 것으로 C-2가 화합물 4 (kaempferol)보다 약 10.1 ppm downfield된 것으로 보아 C-3에 rhamnose가 결합하고 있음을 알 수 있으며 이상은 Harborne과 Mabry (1982)가 보고한 값과 일치하여 화합물 7은 kaemp-

ferol의 C-3에 rhamnose가 결합한 afzelin으로 구조를 규명하였다. Positive FAB-MS 스펙트럼에서  $[M+H]^+$   $m/z$  433으로 이 화합물의 분자량 432와 일치하였다.

화합물 8은 화합물 7과 유사한 구조를 갖고 있으나 C-3에 rhamnose가 아닌 glucose가 결합된 화합물이다. Aliphatic proton 피크를 비롯하여 1개의 hexose에서 기인하는 methine 및 methylene 피크가  $\delta$  3.20~ $\delta$  3.50에서 관찰되었다. 또한, glucose의 1번 anomeric proton의 입체배위는  $\delta$  5.24에서 나타나는  $J$ 값이 7.3 Hz로 입체적으로 aglycone과 당이  $\beta$  결합하고 있음을 알 수 있었다(Harborne, 1994).

$^{13}C$ -NMR 스펙트럼(Table 2)에서는  $\delta$  104.14에서 anomeric carbon이 나타나며  $\delta$  62.65,  $\delta$  71.36,  $\delta$  75.77,  $\delta$  78.06,  $\delta$  78.43의 피크는 glucose의 전형적인 값을 보여주고 있다. Harborne과 Marbry (1982)는 flavonol의 C-3 위치에 당이 결합하면 C-3 signal은 약 2 ppm 정도 upfield되고 C-2 signal은 약 9.2 ppm 정도 downfield되어 나타난다고 보고한 바 있으며 화합물 8도 이러한 결과와 동일한 값을 나타내었다. Positive FAB-MS 스펙트럼에서  $[M+H]^+$   $m/z$  449로 분자량 448과 일치하였다. 따라서 화합물 8은 astragalinalin으로 구조를 규명하였다.

### 3.3. Quercetin (5), quercitrin (9) 및 isoquercitrin (10)

화합물 5는 화합물 4의 C-3'에 hydroxyl group이 결합한 구조로 문헌(Agrawal, 1989)과 화합물 4의 data를 비교하여 quercetin 화합물임을 규명하였으며 분자량도 일치하였다.

화합물 9는 노란색의 분말로 509 mg을 단리하였으며 1%  $FeCl_3$ 에 양성으로 반응하였다. 셀룰로오스 TLC에서  $R_f$ 는 0.66 (solvent A)와 0.40 (solvent B)이었다. 이 화합물은 화합물 5의 C-3의 위치에 당이 결합되어있는 구조로  $^1H$ -NMR에서 이 화합물에 결합된 rhamnose의 anomeric proton이  $\alpha$ 형태( $J = 1.0$  Hz)를 갖고 있음을 알 수 있으며 rhamnose의 H-2'', 3'', 4'', 5''에 해당하는 proton은  $\delta$  3.35~ $\delta$

4.22에서 나타났다.  $^{13}C$ -NMR 스펙트럼(Table 2)에서 hydroxyl group이 결합한 C-5와 C-7은  $\delta$  163.22,  $\delta$  165.86으로 각각 저자장에서 나타나 전형적인 phloroglucinol A환으로 구성되어 있었다.  $\delta$  103.65의 피크는 rhamnose의 C-1''이며 나머지 C-2'', 3'', 4'', 5''에 해당하는 signal이 각각  $\delta$  72.15,  $\delta$  72.06,  $\delta$  73.29,  $\delta$  71.94에서 나타나고 있고, C-2와 C-3은  $\delta$  159.33과  $\delta$  136.27에서 피크가 나타났으며 C-2가 Agrawal (1989)이 보고한 quercetin보다 10 ppm 정도 더 downfield된 것으로써 rhamnose가 C-3에 결합하고 있는 것을 알 수 있었다. Positive FAB-MS 스펙트럼에서  $[M+H]^+$   $m/z$  449로서 이 화합물의 분자량 448과 일치하였다. 이상의 결과 및 문헌(김동, 1996; 박, 1996)을 비교하여 화합물 9는 quercitrin (quercetin-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside)로 구조를 규명하였다.

화합물 10은 노란색의 분말로 화합물 9와 유사한 구조를 갖고 있으나 이 화합물은 C-3에 glucose가 결합된 구조이다.  $^1H$ -NMR 스펙트럼에서는  $\delta$  5.25에서 glucose의 H-1''의 피크가 doublet으로 관찰되었으며  $J$ 값이 7.62 Hz로  $\beta$ -D-glucose의 형태임을 알 수 있었다. 또한 glucose의 나머지 proton은  $\delta$  3.23~ $\delta$  3.73에서 H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''에 해당하는 signal이 나타났다.

$^{13}C$ -NMR spectrum (Table 2)에서  $\delta$  104.35에서 glucose의 C-1''이 나타나고 있으며  $\delta$  75.75,  $\delta$  78.41,  $\delta$  71.24,  $\delta$  78.14,  $\delta$  62.58의 피크는 C-2'', 3'', 4'', 5'', 6''로 glucose의 값을 나타내고 있다.

Fernandez 등(2005)이 *Argemone platyceras*의 잎의 EtOAc 분획에서 단리하여 보고한 값과 동일하였으며 positive FAB-MS 스펙트럼에서  $[M+H]^+$   $m/z$  465로 이 화합물의 분자량 464와 일치하였다. 따라서 화합물 13은 isoquercitrin (quercetin-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside)으로 구조를 규명하였다.

### 3.4. Myricetin (6) and myricitrin (11)

화합물 6은 노란색의 분말로 얻었으며 B환이 pyrogallol 구조를 갖고 있어 H-2'과 H-6'이 하나의 피



크로  $\delta$  7.34에서 나타났으며 2개의 수소에 대한 적분값을 보여주었다.

$^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼(Table 1)에서 carbonyl group의 C-4는 177.30 ppm에서 나타나고 있으며 이것은 flavanonol의 C-4보다 약 20 ppm 정도 upfield되어 나타났다(Agrawal, 1989). C-2와 C-3은  $\delta$  148.02와  $\delta$  137.39에서 관찰되어 두 carbon이 서로 이중결합하고 있는 flavanol 화합물임을 알 수 있었다. B환은 C-3', C-4', C-5'이 hydroxyl group이 치환되어 있어 C-2', 6'와 C-3', 5'이  $\delta$  108.52와  $\delta$  146.53에서 단일 signal로 나타났다. 이상의 결과로 화합물 6은 pyrogallol B환과 phloroglucinol A환으로 구성되어 있는 myricetin으로 구조를 규명하였으며 EI-MS 스펙트럼에서 보는 바와 같이 분자량이  $[\text{M}]^+ m/z$  318과 일치하였다.

화합물 11은 노란색 분말로 단리하였으며 1%  $\text{FeCl}_3$ 에 양성으로 반응하였다. 셀룰로오스 TLC에서 R<sub>f</sub>는 0.57 (solvent A)와 0.26 (solvent B)로 전개되었다.

$^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta$  6.95의 단일 signal은 B환의 C-3', 4', 5'에 hydroxyl group이 결합되어 있는 형태로 H-2'과 H-6'이 서로 대칭을 이루기 때문에 적분값이 두 개의 수소를 나타내는 singlet으로 나타났다.

$^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼(Table 2)에서 A환의 C-6과 C-8은  $\delta$  99.83과  $\delta$  94.71에서 특징적인 signal을 주고 있으며 hydroxyl group이 결합된 C-5와 C-7은 downfield 되어  $\delta$  163.22과  $\delta$  165.88에서 나타나고 있다. B환의 C-2', 6'과 C-3', 5'은 각각  $\delta$  109.61과  $\delta$  146.87에서 대칭되는 하나의 큰 signal을 주고 있으며 C-4'은 인접한 C-3', 5'의 hydroxyl group에 의해 B환의 C-4'보다 크게 upfield되어  $\delta$  137.91에서 나타나는 차이를 보였으며 Sakushima 등(1983)이 보고한 화합물과 비교 분석하여 구조를 규명하였다.

Positive FAB-MS 스펙트럼에서  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  465로서 분자량이 일치하였다. 따라서 화합물 11은 myricetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, 즉 miricitrin으로 구조를 규명하였다.

## 4. 결 론

가래나무 수피를 아세톤-물(7:3, v/v)의 추출용매로 추출한 후 EtOAc과  $\text{H}_2\text{O}$ -용성 화합물을 Sephadex LH-20으로 반복적인 칼럼크로마토그래피를 수행하여 NMR 및 MS 등을 통해 구조를 규명하였다. 단리된 화합물은 flavanol 화합물인 aromadendrin (20 mg) (1), taxifolin (64 mg) (2)과 ampelopsin (84 mg) (3), flavanol 화합물인 kaempferol (26 mg) (4), quercetin (30 mg) (5), myricetin (12 mg) (6), flavanol glycoside 화합물인 afzelin (40 mg) (7), astragalin (64 mg) (8), quercitrin (12 mg) (9), isoquercitrin (15 mg) (10)과 myricitrin (18 mg) (11)였다. 화합물 1, 3, 4, 5, 6, 8 및 10은 가래나무 수피에서는 처음으로 단리되었다.

## 참 고 문 헌

- 김양일, 이승호, 조태순. 1996. 굴피나무 잎으로부터 항암활성을 갖는 천연물질의 분리. 생약학회지. 27(3): 238~245.
- 문관심. 1984. 약초의 성분과 이용. 과학. 백과사전출판사. p. 166~167.
- 박용양. 1996. 신나무의 Phenol성 화합물에 관한 화학적 연구(I). 생약학회지. 27(3): 212~218.
- 이유미. 1997. 우리가 정말 알아야 할 우리나라 백가지. 현암사. pp. 465~468.
- 임록재. 1999. 조선약용식물지 I. 농업출판사. pp. 82~83.
- Agrawal, P. K. 1989. Carbon-13 NMR of Flavonoids. Elsevier, New York. pp. 150~155.
- Fernandez, J., R. Reyes, H. Ponce, M. Oropeza, M-R. VanCalsteren, C. Jankowski, and M. G. Campos. 2005. Isoquercitrin from *Argemone platyceras* inhibits carbachol and leukotriene D<sub>4</sub>-induced contraction in guinea-pig airways. European Journal of Pharmacology. 522: 108~115.
- Ham, Y. H. and Y. S. Bae. 1995. Flavonoid extractives of *Populus albaglandulosa*. Mokchaekonghak 23(2): 94~99.
- Harbone J. B. 1994. The flavonoids: advances in

- research. Chapman and Hall. pp. 463~464.
10. Harbone, J. B. and T. J. Marby. 1982. The Flavonoids: Advanced in Reserch. pp. 120.
  11. Joe, Y. K., J. K. Son, S. H. Park, I. J. Lee, and D. C. Moon. 1996. New naphthalenyl glucosides from the roots of *Juglans mandshurica*. J. Nat. Prod. 59: 159~160.
  12. Kim, S. H., K. S. Lee, J. K. Son, G. H. Je, J. S. Lee, C. H. Lee, and C. J. Cheong. 1998. Cytotoxic compounds from the roots of *Juglans mandshurica*. J. Nat. Prod. 61: 643~645.
  13. Lee, K. S., G. Li, S. H. Kim, C. S. Lee, M. H. Woo, S. H. Lee, Y. D. Jhang, and J. K. Son. 2002. Cytotoxic diarylheptanoids from the roots of *Juglans mandshurica*. J. Nat. Prod. 65: 1707~1708.
  14. Lee, S. W., K. S. Lee, and J. K. Son. 1999. New naphthalenyl glycosides from the roots of *Juglans mandshurica*. Planta Med. 66: 184~186.
  15. Li, G., S. Y. Lee, K. S. Lee, S. W. Lee, S. H. Kim, S. H. Lee, C. S. Lee, M. H. Woo, and J. K. Son. 2003. DNA topoisomerase I and II inhibitory activity of constituents isolated from *Juglans mandshurica*. Arch. Pharm. Res. 26(6): 466~470.
  16. Sakushima, A. M. Coskun, S. Hisada, and S. Nishibe. 1983. Flavonoids from *Rhamnus pallasii*, Phytochemistry. 22(7): 1677~1678.
  17. Son J. K. 1995. Isolation and structure determination of a new tetralone glucoside from the roots of *Juglans mandshurica*. Arch. Pharm. Res. 18(3): 203~205.