

*Sasa borealis*의 Diastereomeric 성분들의 역상 고속액체크로마토그래프 분석방법

정연희 · 이준 · 권영주[#] · 서은경[#]

이화여자대학교 약학대학

(Received August 23, 2005; Revised January 26, 2006)

Reverse-Phase HPLC Method for Identification of Diastereomeric Constituents from *Sasa borealis*

Yeon Hee Jeong, Jun Lee, Youngjoo Kwon[#] and Eun-Kyoung Seo[#]

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Abstract — Reiterated normal-phase column chromatography lead to the isolation and purification of six known compounds but for the first time from the whole plant of *Sasa borealis* (Hack.) Makino (Gramineae); tricin 4'-*O*-(*erythro*- β -guaiaicylglyceryl) ether (1), tricin 4'-*O*-(*threo*- β -guaiaicylglyceryl) ether (2), tricin 4'-*O*-[*erythro*- β -guaiaicyl-(9'-*O*-acetyl)-glyceryl] ether (3), tricin 4'-*O*-[*threo*- β -guaiaicyl-(9'-*O*-acetyl)-glyceryl] ether (4), (-)-pinoresinol (5), and vanillin (6). The structures of the compounds (1-6) were established based on interpretation of high resolution NMR (COSY, HSQC, HMBC, and NOESY) spectral data. In particular, compounds 1 and 3 were diastereomers of compounds 2 and 4, respectively. These two sets of diastereomers were able to be simultaneously identified and quantified by a gradient reversed-phase HPLC method with UV photodiode array. This sensitive HPLC method is noteworthy as a simultaneous separation and identification method to test the extract of the family Gramineae which contains these compounds.

Keywords □ *Sasa borealis*, Gramineae, simultaneous isolation and identification by HPLC

조릿대 산죽(*Sasa borealis*(Hack.) Makino)는 함경남도 이남에서 자생하는 벼과(Gramineae)의 다년생 식물로서 약 550 속으로 나누어 10,000 여종이 알려져 있으며, 민간에서는 화상, 폐결핵성의 기침, 자궁염, 생리불순, 및 요독증 등의 질환에 효능을 나타낸다고 알려져 있다.^{1,2)} *Sasa*의 여러 종으로부터 triterpenes, flavonoids, 및 flavonolignans 등이 분리 보고된 바 있으나 조릿대 산죽에 대한 연구 결과 보고는 많지 않다.^{3,4)} 본 연구에서는 조릿대 산죽의 메탄올 추출물로부터 *n*-헥산, 에칠 아세테이트, 및 *n*-부탄올 용매 분획 후 에칠 아세테이트 분획에서 알려진 4종의 flavonolignans(1-4), 1종의 lignan(5), 및 1종의 방향족화합물(6)를 이 식물에서 처음으로 분리하여, 이화학적 성상 및 기기분석적 방법을 이용하여 구조를 확인 하였다. 특히 화합물 5는 벼과 식물에서는 처음 분리 보고하는 바이다. 또한 각 분리된 화합물들을 고속액체크로마토그래프 기술기용리법을 사용하여 동시 분

리 정량 가능함을 제시하였다.

실험 방법 및 재료

실험재료

본 실험에 사용된 조릿대 산죽(*Sasa borealis*(Hack.) Makino)은 2003년 2월 경동 한약 재료상에서 건조 세절된 것을 구입하였다.

기기 및 시약

비선광도 [α]_D는 P-1010 polarimeter(Jasco, Japan)를 사용하여 25°C에서 측정하였고, 자외부 및 적외부 스펙트럼은 U-3000 spectrophotometer(Hitachi, Japan)와 FTS 135 FT-IR spectrometer(Bio-Rad, CA)를 각각 사용하여 측정하였다. 1D 및 2D 핵자기공명 실험은 UNITY INOVA 400 MHz FT-NMR(Varian, CA)으로 수행하였고, TMS를 내부 표준물질로 사용하였다. EI-MS 스펙트럼과 LRESI-MS 스펙트럼은 JMS 700 Mstation HRMS spectrometer(JEOL, Japan)과 VG Biotech platform

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-3277-3047 (팩스) 02-3277-4653
(E-mail) Yuny@ewha.ac.kr, ykwon@ewha.ac.kr

mass spectrometer(VG Biotech, U.K.)를 사용하였다. 박층크로마토그래프 분석은 Kiesel gel 60 F₂₅₄ precoated plates(Merck, Germany)를 사용하여 명시된 용매로 화합물들을 전개시킨 후 10%(v/v) H₂SO₄ 시약(Aldrich) 및 110°C에서 5~10분 가열 처리하여 화합물들을 확인하였다. 칼럼 크로마토그래프용 충전 물질들은 silica gel(230~400 mesh, Merck, Germany), RP-18 (YMC · GEL ODS-A, 12 nm, S-150 μm) 및 Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences, Sweden)를 사용하였고, 칼럼 크로마토그래프용 용매는 1급 시약을 증류한 후 사용하거나 고속액체크로마토그래프급 시약을 사용하였다.

분획추출 및 화합물 분리

건조 및 세절한 조릿대 산죽 전초(4 kg)를 메탄올 1ℓ씩 3회 상온에서 추출하였다. 추출액은 감압 농축한 후 증류수에 현탁시킨 후 *n*-헥산(2 l×6)로 지방을 제거하고 에칠 아세테이트(2 l×4)과 *n*-부탄올(1 l×5)로 용매 분획하였다. 각 분획들을 감압 농축하여 *n*-헥산(23 g), 에칠 아세테이트(17.7 g) 및 *n*-부탄올(22.7 g) 추출물을 얻었다. 에칠 아세테이트 분획 추출물(17.7 g)을 정상 silica gel 고정상으로 크로마토그래프를 실시하여 11개의 분획(F-I~F-XD)을 얻었다. 이 때 이동상으로 메칠렌 클로라이드 : 메탄올 용액을, 전개 방법으로 1 : 0에서 0 : 1 v/v까지 기울기용리를 사용하였다. 분획 F-VI 및 F-VII 합친 뒤 silica gel 칼럼 크로마토그래프(3×30 cm, 기울기용리 *n*-헥산 : 아세톤(50 : 1~0 : 1 v/v))를 하여 또 다른 18개의 분획(SF-I~SF-XVIII)을 얻었다. 이 중 SF-X(20 mg)을 역상 칼럼 크로마토그래프(2×30 cm, 메탄올 : 물 기울기용리(3 : 2~1 : 0 v/v))로 화합물 1(8.8 mg) 및 2(8.6 mg)를 분리하였다. 분획 F-V(652 mg)를 역상 칼럼 크로마토그래프(3×30 cm, 메탄올 : 물 기울기용리(3 : 2~1 : 0 v/v))를 실시하여 8개의 분획(F-V-1~F-V-8)으로 나누고, 이 중 두 번째 분획 F-V-2(54.9 mg)을 계속 silica gel 칼럼(3×30 cm, *n*-헥산:에칠 아세테이트 : 메탄올(5 : 4 : 0.5))을 이용하여 분리 분획한 후, 이 중 첫 번째 분획 F-V-2-1(13 mg)을 취하여 분취용 박층크로마토그래프(Merck 60 F₂₅₄, 20×20 cm, 0.5 mm)를 메칠렌 클로라이드 : 에칠 아세테이트(1 : 1) 혼합 용액의 전개상에서 반복 전개하여 화합물 3(5.4 mg, *R_f*=0.43) 및 4(4.1 mg, *R_f*=0.36)를 정제하였다. 분획 F-IV(600 mg)을 silica gel 칼럼 크로마토그래프(3.5×30 cm)를 *n*-헥산 : 아세톤 기울기용리(8 : 2~0 : 1 v/v) 방법으로 실시하여 8개의 분획(F-IV-1~F-IV-8)으로 나눈 후, 이 중 F-IV-6(60.3 mg)를 Sephadex LH-20 칼럼 크로마토그래프(2×80 cm, 100% 메탄올)를 이용하여 화합물 5(3.7 mg)을 얻었다. 분획 F-III(40 mg)을 Sephadex LH-20 칼럼 크로마토그래프(2×80 cm, 클로로포름 : 메탄올(1 : 2))로 화합물 6(3.3 mg)을 분리 정제하였다.

화합물 1 - 황색 무정형 고체, $[\alpha]_D^{25}$: +20.0°(c 0.15, 메탄올); IR(film) ν_{\max} (cm⁻¹): 3395, 2927, 1731, 1650, 1615, 1592, 1518,

1503, 1163, 1126; UV λ_{\max} 메탄올(log ε) : 334 nm(4.16); ¹H-NMR(아세톤-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.02(1H, br s, OH-5), 7.39(2H, s, H-2', H-6'), 7.07(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2"), 6.88(1H, dd, *J*=8.2, 1.6 Hz, H-6"), 6.79(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5"), 6.78(1H, s, H-3), 6.57(1H, s, H-8), 6.28(1H, s, H-6), 5.07(1H, d, *J*=4.4 Hz, H-7"), 4.36(1H, dd, *J*=8.4, 4.8 Hz, H-8"), 4.00(6H, s, OCH₃-3', OCH₃-5'), 3.91(1H, dd, *J*=12.0, 5.4 Hz, H-9"), 3.84(3H, s, OCH₃-3"), 3.55(1H, dd, *J*=12.0, 3.6 Hz, H-9"); ¹³C-NMR(아세톤-*d*₆, 100 MHz) δ : 183.1(s, C-4), 165.6(s, C-7), 164.3(s, C-2), 163.2(s, C-5), 158.9(s, C-9), 154.7(s, C-3', C-5'), 148.1(s, C-3"), 146.6(s, C-4"), 140.1(s, C-4'), 133.8(s, C-1"), 127.7(s, C-1'), 120.2(d, C-6"), 115.3(d, C-5"), 111.1(d, C-2"), 106.1(d, C-3), 105.4(s, C-10), 105.1(d, C-2', C-6'), 100.0(d, C-6), 95.2(d, C-8), 88.2(d, C-8"), 73.6(d, C-7"), 61.2(t, C-9"), 57.0(q, OCH₃-3', OCH₃-5'), 56.3(q, OCH₃-3"); LRESIMS *m/z*(% rel. int.) 526([M]⁺, 58), 525(100), 330(3), 329(10).

화합물 2 - 황색 무정형 고체, $[\alpha]_D^{25}$: +17.0°(c 0.12, 메탄올); IR(film) ν_{\max} (cm⁻¹) : 3411, 2916, 1733, 1650, 1616, 1592, 1519, 1497, 1179, 1126; UV λ_{\max} 메탄올(log ε) : 329 nm(4.26); ¹H-NMR(아세톤-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.02(1H, br s, OH-5), 7.40(2H, s, H-2', H-6'), 7.08(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-2"), 6.94(1H, dd, *J*=8.4, 1.6 Hz, H-6"), 6.78(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5"), 6.78(1H, s, H-3), 6.58(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-8), 6.29(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-6), 5.05(1H, d, *J*=6.8 Hz, H-7"), 4.18(1H, dd, *J*=7.0, 3.4 Hz, H-8"), 4.03(6H, s, OCH₃-3', OCH₃-5'), 3.83(3H, s, OCH₃-3"), 3.75(1H, dd, *J*=12.0, 4.0 Hz, H-9"), 3.40(1H, dd, *J*=12.2, 3.7 Hz, H-9"); ¹³C-NMR(아세톤-*d*₆, 100 MHz) δ : 183.1(s, C-4), 166.3(s, C-7), 164.2(s, C-2), 163.3(s, C-5), 158.9(s, C-9), 154.4(s, C-3', C-5'), 148.0(s, C-3"), 146.9(s, C-4"), 140.5(s, C-4'), 133.7(s, C-1"), 129.2(s, C-1'), 120.7(d, C-6"), 115.3(d, C-5"), 111.5(d, C-2"), 106.1(d, C-3), 105.1(s, C-10), 105.0(d, C-2', C-6'), 100.2(d, C-6), 95.3(d, C-8), 89.8(d, C-8"), 73.9(d, C-7"), 61.7(t, C-9"), 56.9(q, OCH₃-3', OCH₃-5'), 56.3(q, OCH₃-3"); LRESIMS *m/z*(% rel. int.) 526([M]⁺, 28), 525(100), 330(5), 329(20).

화합물 3 - 황색 무정형 고체, $[\alpha]_D^{25}$: -60.0°(c 0.1 메탄올); IR(film) ν_{\max} (cm⁻¹) : 3405, 2922, 1732, 1650, 1620, 1594, 1519, 1497, 1166, 1127; UV λ_{\max} 메탄올(log ε) : 335 nm(3.70); ¹H-NMR(아세톤-*d*₆, 400 MHz) δ : 7.40(2H, s, H-2', H-6'), 7.06(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2"), 6.86(1H, dd, *J*=8.0, 1.6 Hz, H-6"), 6.79(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5"), 6.77(1H, s, H-3), 6.55(1H, s, H-8), 6.26(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 4.98(1H, d, *J*=4.0 Hz, H-7"), 4.66(1H, ddd, *J*=7.2, 4.0, 3.2 Hz, H-8"), 4.43(1H, dd, *J*=12.0, 7.2 Hz, H-9"), 4.15(1H, dd, *J*=12.0, 3.2 Hz, H-9"), 4.01(6H, s,

OCH₃-3', OCH₃-5'), 3.84(3H, s, OCH₃-3''), 1.87(3H, s, COCH₃-9''); ¹³C-NMR(아세톤-d₆, 100 MHz) δ : 183.0(s, C-4), 170.9(s, COCH₃-9''), 167.0(s, C-7), 164.2(s, C-2, C-5), 159.0(s, C-9), 154.7(s, C-3', C-5'), 148.2(s, C-3''), 146.7(s, C-4''), 139.9(s, C-4'), 132.8(s, C-1''), 127.9(s, C-1'), 119.9(d, C-6''), 115.5(d, C-5''), 110.7(d, C-2''), 106.0(d, C-3), 104.9(s, C-10, d, C-2', C-6'), 100.4(d, C-6), 95.3(d, C-8), 84.7(d, C-8''), 73.2(d, C-7''), 63.7(t, C-9''), 57.0(q, OCH₃-3', OCH₃-5'), 56.3(q, OCH₃-3''), 20.8(q, COCH₃-9''); LRESIMS *m/z*(% rel. int.) 568([M]⁺, 22), 567(83), 539(79), 501(100).

화합물 4 - 황색 무정형 고체, [α]_D²⁵ : +10.0°(c 0.1, 메탄올); IR ν_{max}(cm⁻¹) : 3417, 2920, 1731, 1650, 1614, 1589, 1518, 1496, 1166, 1125; UV λ_{max} 메탄올(log ε) : 331 nm(3.93); ¹H-NMR(아세톤-d₆, 400 MHz) δ : 7.40(2H, s, H-2', H-6'), 7.06(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2''), 6.91(1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6''), 6.78(1H, s, H-3), 6.77(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5''), 6.57(1H, br s, H-8), 6.27(1H, d, *J*=1.6 Hz, H-6), 4.97(1H, d, *J*=6.4 Hz, H-7''), 4.46(1H, ddd, *J*=6.8, 4.8, 3.6 Hz, H-8''), 4.34(1H, dd, *J*=12.0, 3.2 Hz, H-9''), 4.00(6H, s, OCH₃-3', OCH₃-5'), 3.97(1H, dd, *J*=13.2, 6.0 Hz, H-9''), 3.82(3H, s, OCH₃-3''), 1.95(3H, s, COCH₃-9''); ¹³C-NMR(아세톤-d₆, 100 MHz) δ : 182.3(s, C-4), 170.0(s, COCH₃-9''), 165.2(s, C-7), 163.5(s, C-2, C-5), 158.2(s, C-9), 153.5(s, C-3', C-5'), 147.3(s, C-3''), 146.3(s, C-4''), 140.2(s, C-4'), 132.3(s, C-1''), 127.0(s, C-1'), 119.9(d, C-6''), 114.6(d, C-5''), 110.6(d, C-2''), 105.3(d, C-3), 104.4(s, C-10), 104.2(d, C-2', C-6'), 99.3(d, C-6), 94.5(d, C-8), 85.6(d, C-8''), 73.6(d, C-7''), 64.1(t, C-9''), 56.2(q, OCH₃-3', OCH₃-5'), 55.6(q, OCH₃-3''), 20.0(q, COCH₃-9''); LRESIMS *m/z*(% rel. int.) 568([M]⁺, 33), 567(100), 539(21), 239(52).

화합물 5 - 무정형 고체; [α]_D²⁵ : -20.0°(c 0.2, 클로로포름); IR (film) ν_{max}(cm⁻¹) : 3368, 1604, 1515, 1462, 1366, 1125; UV λ_{max} 메탄올(log ε) : 280 nm(3.78); ¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ : 6.90(2H, d, *J*=2.0 Hz, H-2, H-2'), 6.89(2H, d, *J*=8.0 Hz, H-6, H-6'), 6.82(2H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-5, H-5'), 4.74(2H,

d, *J*=4.4 Hz, H-7, H-7'), 4.25(2H, m, H-9, H-9'), 3.91(6H, s, OCH₃-3, OCH₃-3'), 3.85(2H, dd, *J*=8.0, 4.0 Hz, H-9, H-9'), 3.10(1H, m, H-8, H-8'); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ : 146.9(s, C-3, C-3'), 145.5(s, C-4, C-4'), 133.1(s, C-1, C-1'), 119.2(d, C-6, C-6'), 114.5(d, C-5, H-5'), 108.8(d, C-2, C-2'), 86.1(d, C-7, C-7'), 71.9(t, C-9, C-9'), 56.2(q, OCH₃-3, OCH₃-3'), 54.4(d, C-8, C-8'); LRESI-MS *m/z*(% rel. int.) 358([M]⁺, 60), 357(6), 151(100), 132(52).

화합물 6 - 백색 결정, IR(film) ν_{max}(cm⁻¹) : 3402, 1738, 1268, 1029; UV λ_{max} 메탄올(log ε) : 277 nm(3.66); ¹H-NMR(아세톤-d₆, 400 MHz) δ : 9.83(1H, s, CHO), 7.44(1H, d, *J*=1.6 Hz, H-2), 7.43(1H, dd, *J*=8.6, 1.8 Hz, H-6), 7.04(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5), 3.97(3H, s, OCH₃-3); ¹³C-NMR(아세톤-d₆, 100 MHz) δ : 190.9(CHO), 151.7(q, C-3), 147.1(s, C-4), 129.9(s, C-1), 127.5(d, C-6), 114.4(d, C-5), 108.8(d, C-2), 56.1(q, OCH₃-3); LRESI-MS *m/z*(% rel. int.) 134([M-H₂O]⁺, 32), 112(27), 98(77), 71(63).

HPLC 분석조건

사용된 고속액체크로마토그래프 장치는 Waters 515 HPLC pump 및 Waters 2487 dual λ absorbance detector(이상 Waters, USA)이다. 반복된 칼럼 크로마토그래프로 분리 확인한 화합물들을 고속액체크로마토그래프 기용기용리 분석방법으로 동시에 분리 확인하였다. 그 조건들은 다음과 같다; 칼럼은 YMC-Pack Pro C18(YMC, 4.6 mm i.d.×250 mm)를, 이동상으로는 A 용액(0.1% TFA 수용액)와 B 용액(아세트나이트릴)간의 직선 기울기용리, 50분 동안 15~55% B 용액; 유속은 1 ml/min, 그리고 자외부 검출기는 λ 270 및 330 nm를 이용하였다.

결과 및 고찰

조릿대 산죽 전초의 에칠 아세테이트 추출 분획들로부터 칼럼 크로마토그래프 반복 실시하여 6종의 화합물질들을 분리하고 그 구조들은 이화학적 성상 및 고분해능 핵자기공명 스펙트럼 자료(COSY, HSQC, HMBC, and NOESY)를 포함한 기기분석 자료

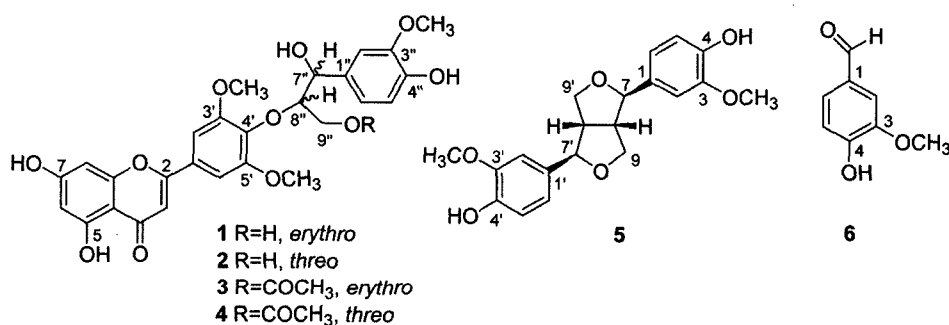


Fig. 1 - Structures of compounds 1-6.

들을 해석 및 기존 발표된 논문의 자료들과 비교 분석하여 확인하였다(Fig. 1); tricin 4'-*O*-(*erythro*- β -guaiacylglyceryl) ether (1),^{5,6)} tricin 4'-*O*-(*threo*- β -guaiacylglyceryl) ether(2),^{5,6)} tricin 4'-*O*-[*erythro*- β -guaiacyl-(9"-*O*-acetyl)-glyceryl] ether(3),⁴⁾ tricin 4'-*O*-[*threo*- β -guaiacyl-(9"-*O*-acetyl)-glyceryl] ether(4),⁴⁾ (-)-pinoresinol(5),⁷⁾ 및 vanillin(6).⁸⁾

화합물 1과 2의 ESI-MS에 의한 molecular ion peak [M]⁺는 *m/z* 526에서 확인되었다. Broad singlet 하나가 δ_H 13.02(1H, br s, OH-5)에서, 또 다른 하나의 singlet peak가 δ_H 6.78(1H, s, H-3)에서 관찰되는 전형적인 flavone류 화합물의 proton peak 양상을 확인할 수 있었다. 또한 두 개의 *meta*-coupled doublets peak가 δ_H 6.29(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-6)와 δ_H 6.58(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-8)에서 관찰되었다. 이들은 flavone A ring의 H-6와 H-8 위치의 proton들의 전형적인 peak들이다. δ_H 6.78(1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5"), δ_H 6.94(1H, dd, *J*=8.4, 1.6 Hz, H-6"), 및 δ_H 7.08(1H, d, *J*=2.4 Hz, H-2")에서의 방향족 proton들의 확인은 phenylpropanoid 성분의 ABX spin system과 적합한 결과이고, C-3" 및 C-3'와 C-5'에 위치한 세 methoxy 그룹들이 δ_H 3.83(3H, s) 및 δ_H 3.91(6H, s)에서 관찰되었고, 또한 HMBC 스펙트럼에서 three-bond connectivity에 의하여 서로 확인되었다. H-8"와 C-4' 사이의 HMBC correlation은 C-4' 위치에 guaiacylglyceryl기가 도입되었음을 보여주었다. 이상의 결과로 1과 2는 C₂₇H₂₆O₁₁의 분자식을 가짐을 알 수 있었고, 그 구조들을 기존의 문헌^{5,6)}과 비교하여 각각 tricin 4'-*O*-(*erythro*- β -guaiacylglyceryl) ether와 tricin 4'-*O*-(*threo*- β -guaiacylglyceryl) ether로 확정하였다.

화합물 3과 4의 ESI-MS에 의한 molecular ion peak [M]⁺는 *m/z* 568에서 확인되었고 ¹H과 ¹³C NMR 스펙트럼 양상은 단지 acetyl signal를 제외하고 1과 2의 경우와 거의 유사하였다. 3과 4의 HMBC 스펙트럼에서 H-9"와 acetyl 그룹의 탄소(-OCOCH₃) 사이의 three-bond connectivity가 확인되었다. 이상의 자료들과 문헌⁴⁾과의 비교를 근거로 화합물 3과 4는 C-9"에서 acetyl 그룹이 도입된, 분자식이 C₂₉H₂₈O₁₂인 tricin 4'-*O*-[*erythro*- β -guaiacyl-(9"-*O*-acetyl)-glyceryl] ether(3)과 tricin 4'-*O*-[*threo*- β -guaiacyl-(9"-*O*-acetyl)-glyceryl] ether(4)이라 확정하였다. 특히 화합물 1-4는 diastereoisomeric flavonolignans으로서 tricin에 guaiacylglyceryl derivative가 ether 형태로 연결된 구조로 C-7"와 C-8" 위치에 두 개의 chiral center를 포함하고 있다. H-7"과 H-8" 사이의 coupling constant 값에 따라 1-4의 *erythro* 또는 *threo* 형태 구별이 가능하였다.⁹⁾ 문헌에서의 *erythro* 형을 위한 H-7"과 H-8" 사이의 coupling constant는 약 3.2 Hz였고 *threo* 형일 경우 그보다 큰 8 Hz였다.⁵⁾ 화합물 1과 2에서 H-7"과 H-8" 사이의 coupling constant 값들은 아세톤-*d*₆에서 측정했을 때 각각 4.4와 6.8 Hz였다. 그러므로 화합물의 1과 2의 구조를 tricin 4'-*O*-(*erythro*- β -guaiacylglyceryl) ether와 tricin 4'-*O*-(*threo*- β -

guaiacylglyceryl) ether로 확정할 수 있었다. 화합물 3과 4의 coupling constant는 아세톤-*d*₆에서 각 4.0과 6.4 Hz였으므로 tricin 4'-*O*-[*erythro*- β -guaiacyl-(9"-*O*-acetyl)-glyceryl] ether와 tricin 4'-*O*-[*threo*- β -guaiacyl-(9"-*O*-acetyl)-glyceryl] ether로 각각 확정 가능하였다.

화합물 5의 ¹H 및 ¹³C NMR 스펙트럼 자료와 ESI-MS molecular peak [M]⁺ 값이 *m/z* 358에서 관찰되어 그 분자식은 C₂₀H₂₂O₆로 확인하였다. ¹H NMR 스펙트럼에서 방향족 환의 ABX splitting spin 양상을 보여주는 proton들의 resonance가 δ_H 6.82(2H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6, H-6'), δ_H 6.89(2H, d, *J*=8.0 Hz, H-5, H-5') 및 δ_H 6.90(2H, d, *J*=2.0 Hz, H-2, H-2')에서 각각 관찰 되었다. 또한 이러한 6개의 방향족 proton의 확인과 더불어 methoxy기에 해당하는 resonance peak의 δ_H 3.91(6H, s, OCH₃-3, OCH₃-3')에서의 관찰로 symmetrical disubstitution을 가진 2개의 방향족 환들이 대칭적 구조하에 있음을 알 수 있다.⁷⁾ H-7, H-7', H-8, 및 H-8' 위치의 네 개의 methine proton에 해당되는 peak들이 δ_H 4.74(2H, d, *J*=4.4 Hz), δ_H 3.10(2H, m)에서 관찰되었다. C-9와 C-9' 위치의 네 개의 methylene proton에 해당하는 peak들은 δ_H 4.25(2H, m, H-9, H-9')와 δ_H 3.85(2H, dd, *J*=8.0, 4.0 Hz, H-9, H-9')에서 관찰 되었고, C-9와 C-9'의 ¹³C spectral data는 δ_C 71.9(t)에서 관찰되었다. 관찰된 모든 spectral data는 pinoresinol의 것과 비교할 때 유사하였다.⁷⁾ 화합물 5의 optical rotation [α]_D²⁵의 측정값은 -20°이다. 이상의 결과와 기존 문헌과의 비교를 통하여 화합물 5를 lignan의 일종인 (-)-pinoresinol로 확정하였다.

화합물 6의 [M-H₂O]⁺ ion peak는 *m/z* 134에서 관찰되었다. 6의 특징적인 signals인 aldehyde proton이 δ_H 9.83(1H, s, CHO)에서, 1,2,4-trisubstituted benzene ring에 해당하는 방향족 proton signals이 δ_H 7.44(1H, d, *J*=1.6 Hz, H-2), δ_H 7.43(1H, dd, *J*=8.6, 1.8 Hz, H-6), 및 δ_H 7.04(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5)에서, 그리고 methoxy기에 해당하는 singlet이 δ_H 3.97(3H, s, OCH₃-3)에서 관찰되었다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 δ_C 190.9에서 aldehyde carbon을, δ_C 151.7(q, C-3), 147.1(s, C-4), 129.9(s, C-1)에서, 4급 방향족 carbon을, δ_C 127.5(d, C-6), 114.4(d, C-5), 108.8(d, C-2)에서 방향족 carbon을, δ_C 56.1(q)에서 methoxy carbon(OCH₃-3)을 확인하였다. 이상의 결과와 기존의 문헌⁸⁾과의 비교로 6은 분자식 C₈H₈O₃의 vanillin으로 확정하였다.

각 화합물들을 역상 고속액체크로마토그래프 기술기용리 분석법을 이용하여 분리 확인을 시도하였고 그 고속액체크로마토그래프 자료는 Fig. 2에 나타나 있다. 이러한 분석 조건은 실제 flavolignan의 일종인 tricin 및 그것의 다양한 derivatives를 함유하고 있는 *Sasa* species를 간단하게 확인할 수 있는 하나의 분석법이 될 수 있다. *Sasa* species들 중에는 *Sasa health*와 같이 그 추출물에 대하여 생리학적 활성에 관한 연구가 다양하게 행

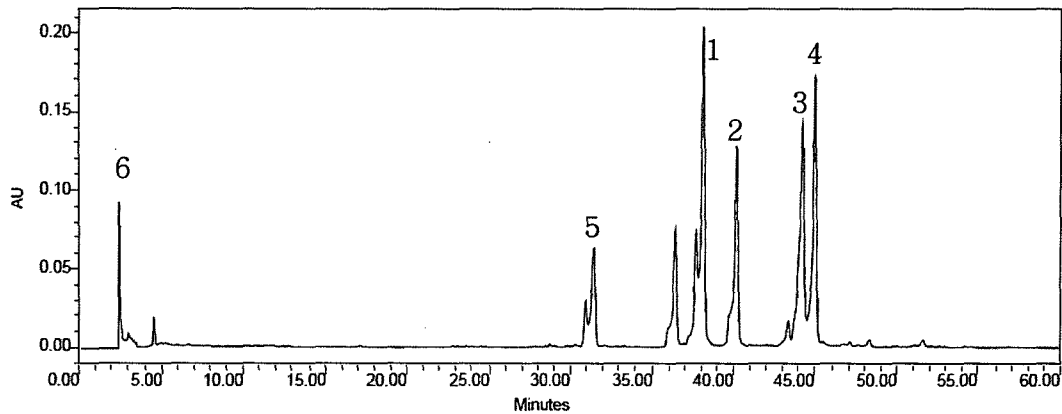


Fig. 2 – HPLC profile for compounds 1-6. Each number indicates compound in Fig. 1.

하여지고 있다.¹⁰⁻¹³⁾ 화합물 1과 2는 *Sasa*의 다른 종인 *Sasa veitchii*(Carr.) Rehder⁴⁾ 및 *Salsola collina* L.(Chenopodiaceae),¹⁴⁾ *Hyparrhenia hirta*(L.) Stapf(Poaceae)⁶⁾와 *Avena sativa* L. (Poaceae)⁵⁾ 등의 식물들에서도 분리된 바 있으나 다른 flavolignan 류와는 달리 혼치 않은 diastereomeric 화합물이다. 또한 flavolignan류의 stereoisomer들을 단일 물질로 분리하는 것은 쉽지 않은 일로 알려져 있다.¹⁵⁾ 이러한 식물들로부터 분리, 추출된 물질을 이용한 활성시험에서 보다 나은 결과를 수확하기 위한 수단으로 이 분석법을 시료 준비 과정에서의 quality control에 활용할 수 있으리라 사료 된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단의 여대기반연구확충사업[R06-2002-011-01002-0(2004)]에 의해 지원되었습니다.

참고문헌

- 1) Koh, K. S. and Jeon, E. S. : Ferns, Fern-Allies and seed-bearing plants of Korea. Iljinsa, Seoul (2003).
- 2) Ohmoto, T. and Ikuse, M. : Triterpenoids of the Gramineae. *Phytochemistry* **9**, 2137 (1970).
- 3) Yoon, K. D., Kim, C. Y. and Heo, H. : The flavone glycosides of *Sasa borealis*. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**, 224 (2001).
- 4) Nakajima, Y., Young, S. Y. and Kunugi, A. : Six new flavonolignans from *Sasa veitchii* Rehder. *Tetrahedron* **59**, 8011 (2003).
- 5) Wenzig, E., Kunert, O., Ferreira, D., Schmid, M., Schuhly, W., Bauer, R. and Hiermann, A. : Flavonolignans from *Avena sativa*. *J. Nat. Prod.* **68**, 289 (2005).
- 6) Bouaziz, M., Veitch, N. C., Grayer, R. J., Simmonds, M. S. J. and Damak, M. : Flavanolignans from *Hyparrhenia hirta*. *Phytochemistry* **60**, 515 (2002).
- 7) Zhuang, L. G., Seligmann, O., Jurcic, L. and Wagner, H. : Inhaltsstoffe von *Daphne tangutica*. *Planta Medica* **45**, 172 (1982).
- 8) Jang, D. S., Han, A. R., Park, K. W. N., Jhon, G. J. and Seo, E. K. : Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 386 (2004).
- 9) Braga, A. C. H., Zacchino, S., Badano, H., Sierra, M. G. and Ruveda, E. A. : ¹³C NMR spectral and conformation analysis of 8-O-4' neolignans. *Phytochemistry* **23**, 2025 (1984).
- 10) Ren, M., Reilly, R. T. and Sacchi, N. : *Sasa* health exerts a protective effect on Her2/NeuN mammary tumorigenesis. *Anticancer Res.* **24**, 2879 (2004).
- 11) Duan, H., Takishi, Y., Momota, H., Ohmoto, Y. and Taki, T. : Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa*. *Phytochemistry* **59**, 85 (2002).
- 12) Ando, H., Ohba, H., Sakaki, T., Takamine, K., Kamino, Y., Moriwaki, S., Bakalova, R., Uemura, Y. and Hatate, Y. : Hot-compressed-water decomposed products from bamboo manifest a selective cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia cells. *Toxicol In Vitro.* **18**, 765 (2004).
- 13) Lu, B., Wu, X., Tie, X., Zhang, Y. and Zhang, Y. : Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1 : Acute and subchronic toxicity studies on anti-oxidant of bamboo leaves. *Food Chem. Toxicol.* **43**, 783 (2005).
- 14) Syrchina, A. I., Gorshkov, A. G., Shcherbakov, V. V., Zinchenko, A. L., Vereshchagin, S. V., Zaikov, K. L. and Semenov, A. A. : Flavonolignans of *Salsola collina*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* **28**, 182 (*Engl. Trans., Chemistry of Natural Compounds* **28**, 155) (1992).
- 15) Guz, N. R. and Stermitz, F. R. : Synthesis and structures of regioisomeric hydnocarpin-type flavonolignans. *J. Nat. Prod.* **63**, 1140 (2000).