

사방오리 잎의 Triterpenoid 및 Flavonoid 화합물

유영범 · Norio Nakamura¹ · Hirotsugu Miyashiro¹ · Masao Hattori¹ · 박종철^{2*}
한국한의약연구원, ¹일본도야마대학 화한의약학총합연구소, ²순천대학교 한약자원학과

Triterpenoids and Flavonoids Isolated from the Leaves of *Alnus firma*

Young-Beob Yu, Norio Nakamura¹, Hirotsugu Miyashiro¹, Masao Hattori¹, and Jong Cheol Park^{2*}

Department of Herbal Pharmaceutical Development, Korea Institute of Oriental Medicine,
461-24, Jeonmin-dong, Yusong-gu, Daejeon 305-811, Korea

¹Institute of Natural Medicine, University of Toyama 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan

²Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract – In this study, three triterpenoids, two steroids and nine flavonoids were isolated from the leaves of *Alnus firma* Sieb. et Zucc. On the basis of spectroscopic evidences, the structures of these compounds were established as β -amyrin acetate, β -amyrin, β -sitosterol, alnustic acid methyl ester, β -sitosterol glucoside, pinocembrin, alnustinol, quercetin, quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside, quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside, myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside, (+)-catechin and (–)-epicatechin.

Key words – *Alnus firma*, Betulaceae, triterpenoid, steroid, flavonoid

사방오리 (*Alnus firma* Sieb. et Zucc.)는 우리나라 전역에 분포하고 있는 자작나무과 (Betulaceae)의 낙엽활엽교목으로 잎은 타원형이며 톱니가 있고 산기슭, 개울가, 산골짜기에 자란다.¹⁾ 한방에서 이 식물의 어린가지와 잎을 赤陽이라 하여 비출혈 치료나 설사예방, 외상출혈의 치료에 이용되며 맛은 쓰고 떼으며 성질은 涼하여 火를 내리는 효능이 있는 것으로 알려져 있다.²⁾ 물감나무라는 별명도 있어 이의 열매를 염료로서 이용하기도 하며³⁾, 일본에서 이의 잎과 어린가지의 점액성 물질을 부식방지에 이용한다고 한다.⁴⁾ 이 식물의 이화학적 연구로서 *Alnus*속 식물의 수꽃에서 diarylheptanoid,⁵⁾ stilbene,⁶⁾ flavonoid,⁶⁾ triterpenoid⁷⁾가 알려져 있고, 잎에서 수종의 tannin과 flavonoid가 밝혀져 있다.⁸⁾ 연구에서는 사방오리 잎의 이화학적 연구를 실시하여 triterpenoid, steroid, flavonoid 등 14종의 화합물을 분리하여 그 구조를 동정하였다.

재료 및 방법

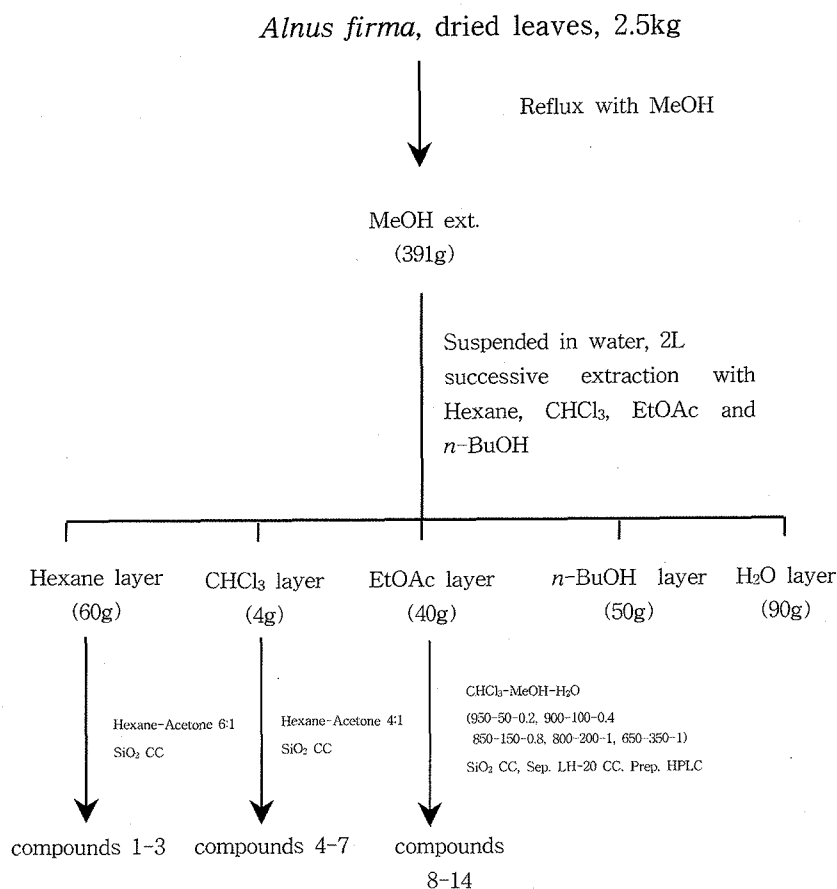
식물재료 – 사방오리 잎은 전남 순천시 순천대학교 인근

의 난봉산에서 채집하여 순천대학교 생물학과 식물분류학실에서 감정한 후 음건세절하여 사용하였으며 표본은 순천대학교 한약자원학과 한약표본실 (SOMR-003)에 보관중이다.

시약 및 기기 – 용매는 특급 및 1급시약을, column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (70~230 mesh, Merck, No. 7734), Sephadex LH-20 (Pharmacia, Uppsala, Sweden)과 RP-18 silica gel 140 C₁₈-OPN (Nacalai Tesque, Tokyo)을, thin layer chromatography는 precoated Kiesel gel 60 F₂₅₄ (Merck, No. 5735), RP-18 F₂₅₄S (0.25 mm, Merck) 및 cellulose (Merck, No. 5577)를 각각 이용하였다. 용점측정은 Fisher-Jones의 melting point apparatus를 사용하였으며 온도는 보정하지 않았다. IR spectrum은 Bomen MB 100 C15 FT-IR spectrophotometer를 사용하여 KBr disk법으로, NMR spectrum은 JNM-LA400WB Lambda (JEOL) NMR Spectrometer와 Varian Unity plus 500 MHz NMR spectrophotometer를, MS는 JEOL JMS-AX 505 HAD를 각각 이용하여 측정하였다.

추출 및 분리 – 음건세절한 사방오리 잎 (2.5 kg)에 MeOH를 가해 80°C 수욕상에서 3시간 동안 환류냉각하면서 추출하였으며 이의 3회 추출분을 모아 rotary evaporator로 용매를 제거하여 MeOH 엑스 (391 g)를 얻었다. MeOH 엑스는 10% MeOH에 현탁시킨 후 용매의 극성을 증가 시킨 계통

*교신저자 (E-mail): jcpark@suncheon.ac.kr
(FAX): 061-750-3608



Scheme 1. Isolation of compounds from the *Alnus firma*

분획법에 의해 헥산 (hexane), 클로로포름 (CHCl₃), 초산에틸 (EtOAc), 부탄올 (*n*-BuOH) 및 물 (H₂O)로 분획하고 이를 감압농축하여 각 분획분을 얻었다. 이중 헥산 분획분을 silica gel column chromatography를 실시하여 화합물 1, 2 및 3을 얻었고, 클로로포름 분획분은 silica gel column에 hexane-acetone 4:1 용매로 용출하여 화합물 4, 5, 6 및 7을 각각 얻었으며, 초산에틸 분획분을 silica gel, Sephadex LH-20, RP-C₁₈ column chromatography 및 HPLC 등을 이용하여 화합물 8-14를 분리하였다 (Scheme 1).

화합물 1 (β -amyirin acetate) – colorless powder from *n*-hexane; mp 241-242°C; EI-MS (rel. int.): m/z 469 [M⁺+1] (70), 409 [M-CH₃COO]⁺ (10), 408 [M-CH₃COOH]⁺ (0.6), 218 [a]⁺ (100), 203 [a-CH₃]⁺ (90), 55 (2); IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹) 2920, 2850 (aliphatic C-H), 1730 (C=CH), 1245 (C=O, acetate), 1380 (CH₃), 775-810 (trisubstituted double bond); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.83 (3H, s, 28-CH₃), 0.86-0.88 (3H each, all s, 23, 24, 29, 30-CH₃), 0.96, 0.97 (3H each, both s, 25, 26-CH₃), 1.13 (3H, s, H-27), 2.05 (3H, s, OCOCH₃), 4.50 (1H, t-like, *J*=7.5 Hz, H-3) 5.18 (1H, t-like, *J*=3.5 Hz, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃)

: Table I.

화합물 2 (β -amyirin) – colorless needles from *n*-hexane; mp 195-196°C; EI-MS (rel. int.): m/z 426 [M⁺] (0.6), 411 [M-CH₃]⁺ (0.2), 257(1), 218 [a]⁺ (100), 203 [a-CH₃]⁺ (45); IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹) 3420 (OH), 2989 (aliphatic C-H), 1645 (C=CH), 1382 (CH₃), 1050 (C-O), 770-820 (trisubstituted double bond); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.79 (3H, s, CH₃-24), 0.83 (3H, s, CH₃-28), 0.87 (6H each, s, CH₃-29,30), 0.94 (3H, s, CH₃-25), 0.97 (3H, s, CH₃-26), 0.99 (3H, s, CH₃-23), 1.14 (3H, s, CH₃-27), 3.21 (1H, dd, *J*=4.5, 11.5 Hz, H-3), 5.18 (1H, t-like, *J*=3.5 Hz, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : Table I.

화합물 3 (β -sitosterol) – colorless needles from CHCl₃-MeOH; mp 133-140°C; EI-MS (rel. int.): m/z 414 [M⁺] (95), 396 [M-H₂O]⁺ (47), 381 [M-CH₃-H₂O]⁺ (30), 303 [M-CH₃-A-ring]⁺ (47), 273 [M-side chain]⁺ (10), 255 [273-H₂O]⁺ (12), 231 (13), 213 (17); IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹) 3410 (OH), 1640 (C=C), 780-820 (trisubstituted double bond); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.68 (3H, s, 18-CH₃), 1.00 (3H, s, 19-CH₃), 0.81~0.85 (3H each, all s, 21, 26, 27, 29-CH₃),

3.52 (1H, m, H-3), 5.35 (1H, m, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) : Table I.

화합물 4 (alnustic acid methyl ester) – colorless oil; mp 195-196°C; $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3400-2800, 1640, 892

Table I. $^{13}\text{C-NMR}$ data of compounds 1-5 in CDCl_3 (δ values)

Carbon No.	1	2	3	4	5 ^a
1	38.2	38.7	37.1	24.5	37.6
2	23.7	27.3	31.5	31.0	30.3
3	80.9	78.9	71.5	174.4	78.5
4	37.7	38.8	42.1	147.2	39.3
5	55.2	55.3	140.1	40.5	140.9
6	18.2	18.4	121.1	28.3	121.9
7	32.5*	32.8	31.8	33.4	32.1
8	39.8	38.8	31.8	39.3	32.1
9	47.5	47.7	49.9	50.6	50.4
10	36.8	37.0	36.3	39.0	37.0
11	23.5	23.6	21.0	33.0	21.4
12	121.6	121.8	39.6	70.7	40.0
13	145.2	145.1	42.1	47.7	42.5
14	41.7	41.8	56.5	52.0	56.9
15	26.1	26.2	24.2	31.7	24.6
16	26.9	27.0	28.1	26.5	28.5
17	32.5*	32.5	55.8	53.6	56.3
18	47.2	47.4	19.3*	15.5	12.0
19	46.7	46.9	11.8	20.1	19.4
20	31.1	31.1	36.0	74.2	36.4
21	34.7	34.8	18.7*	26.9	19.2
22	37.1	37.2	33.8	33.7	34.3
23	28.0	28.2	26.0	34.2	26.5
24	16.7	15.5	45.6	156.8	46.1
25	15.5	15.6	29.0	28.3	29.5
26	16.8	16.9	19.0*	21.9	19.4
27	25.9	26.0	19.7*	22.0	20.0
28	28.4	28.4	23.0	113.6	23.5
29	33.3	33.3	11.9	23.2	12.2
30	23.5	23.7		16.7	
31				106.5	
COOMe	21.4			51.7	
COOMe	171.0				
C-1'					102.6
-2'					75.3
-3'					78.5
-4'					71.7
-5'					78.5
-6'					62.8

*Assignments in each column are reversible

^a: in $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$

($\text{C}=\text{CH}_2$); EI-MS (m/z , %) 485 (M^++1 , 40), 467 ($(\text{M}-\text{H}_2\text{O})^+$, 100), 442 (10), 406 (20), 344 (20), 141 (95), 123 (82), 55 (53); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.88-1.22 ($\text{Me}\times 6$), 1.60 (3H, s), 1.74 (3H, s, $>\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)-$), 3.66 (3H, s, $-\text{COOCH}_3$), 4.70 and 4.82 (4H, br, $\text{C}=\text{CH}_2\times 2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) : Table I.

화합물 5 (β -sitosterol 3-O- β -D-glucoside) – colorless powder from MeOH-CHCl_3 ; mp 283-284°C; $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3415, 1640, 1465, 1370, 1365, 1160, 1070, 1020, 850, 800; EI-MS (m/z , %) 414 (28.0), 396 (100.0), 382 (16.2), 366 (25.0), 255 (21.0), 231 (12.3), 213 (25.7); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) δ : 0.59 (3H, s, 18- CH_3), 0.91 (3H, s, 19- CH_3), 4.35 (1H, d, $J=7.0$ Hz, Glc H-1), 5.29 (1H, br d, $J=4$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): Table I.

화합물 6 (pinocembrin) – colorless needles from n -hexane-EtOA; mp 192-193°C; $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3330 (OH), 1620 (α,β -unsaturated ketone), 1550, 1450 (aromatic $\text{C}=\text{C}$); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.77 (1H, dd, $J=3.2$, 17.3 Hz, H-3), 3.25 (1H, dd, $J=12.8$, 17.3 Hz, H-3), 5.57 (1H, dd, 3.2, 12.8 Hz, H-2), 5.89 (1H, $J=2.0$ Hz, H-6), 5.91 (1H, $J=2.0$ Hz, H-8), 7.37-7.52 (5H, m, B-ring phenyl protons); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): Table II.

화합물 7 (alnustinol) – colorless needles from n -hexane-EtOAc; mp 175-176°C; EI-MS (m/z , %) 302 (M^+ , 273, 195, 183 (base), 182, 167, 156, 120, 91, 77, 69; $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3340 (OH), 1635-1654 (α,β -unsaturated ketone), 1588, 1498, (aromatic $\text{C}=\text{C}$); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.86 (s, $\text{C}_6\text{-OMe}$), 4.40 (d, $J=12$ Hz, H-3), 4.97 (d, $J=12$ Hz, H-2), 5.99 (s, H-8), 7.33 (s, 5H, B-ring protons), 11.34 (s, $\text{C}_5\text{-OH}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : Table II.

화합물 8 (quercetin) – mp 316-317°C; $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3310 (broad, OH), 1662 (α,β -unsaturated ketone), 1617, 1563, 1518 (aromatic $\text{C}=\text{C}$) 1365, 1323; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.18 (1H, d, $J=1.96$ Hz, H-6), 6.40 (1H, d, $J=1.96$ Hz, H-8), 7.67 (1H, d, $J=1.96$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, $J=8.56$ Hz, H-5'), 7.54 (1H, dd, $J=2.2$, 8.56 Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : Table II.

화합물 9 (quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside) – mp 217-219°C; $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}) 3320 (broad, OH), 1650 (α,β -unsaturated ketone), 1615, 1555, 1445 (aromatic $\text{C}=\text{C}$), 1090, 1015 (glycosidic C-O); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 5.58 (1H, d, $J=0.9$ Hz, H-1''), 6.20 (1H, d, $J=1.96$ Hz, H-6), 6.41 (1H, d, $J=1.96$ Hz, H-8), 6.87 (1H, d, $J=8.56$ Hz, H-5'), 7.74 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, $J=2.2$, 8.56 Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : Table II.

화합물 10 (quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside) – mp 174-176°C; IR ν_{\max}^{KBr} (cm $^{-1}$) 3430 (broad, OH), 1660 (α,β -unsaturated ketone), 1628, 1565, 1504, 1445 (aromatic C=C), 1130, 1050, 1018 (glycosidic C-O); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.81 (3H, d, $J=5.5$ Hz, CH $_3$), 5.24 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-1''), 6.20 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.38 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.85 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 7.25 (1H, dd, $J=2.0, 8.2$ Hz, H-6'), 7.29 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) : Table II.

화합물 11 (quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside) – mp 234-236°C; IR ν_{\max}^{KBr} (cm $^{-1}$) ; 3340 (broad, OH), 1663 (α,β -unsaturated ketone), 1610, 1510, 1494 (aromatic C=C), 1052 (glycosidic C-O); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.35 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1''), 6.11 (H, d, $J=1.95$ Hz, H-8), 6.32 (1H, d, $J=1.95$ Hz, H-6), 6.76 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-5'), 7.47 (1H, dd, $J=2.0, 9.3$ Hz, H-6'), 7.47 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) : Table II.

화합물 12 (myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside) – mp 198-201°C; IR ν_{\max}^{KBr} (cm $^{-1}$) 3350 (broad, OH), 1658 (α,β -

unsaturated ketone), 1620, 1540, 1480 (aromatic C=C), 1080 (glycosidic C-O); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ ; 5.40 (1H, d, $J=5.6$ Hz, H-1''), 6.19 (1H, brs, H-6), 6.36 (1H, brs, H-8), 6.94 (2H, s, H-2' and 6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): Table II.

화합물 13 [(+)-catechin] – colorless powder from MeOH; mp 172-175°C ; IR ν_{\max}^{KBr} (cm $^{-1}$) 3350 (broad, OH), 1620, 1540, 1480 (aromatic C=C), 1180; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.50 (1H, dd, $J=8.0, 16.5$ Hz, H-4a), 2.84 (1H, dd, $J=5.3, 16.5$ Hz, H-4e), 4.18 (1H, m, H-3), 4.56 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-2), 5.85 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-6), 5.93 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-8), 6.71 (1H, dd, $J=1.5, 8.0$ Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5'), 6.83 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): Table II.

화합물 14 [(-)-epicatechin] – colorless powder from CHCl $_3$ -MeOH; mp 234-236°C; IR ν_{\max}^{KBr} (cm $^{-1}$) 3450 (broad, OH), 1620, 1540, 1480 (aromatic C=C), 1140, 1103; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.73 (1H, dd, $J=3.0, 16.5$ Hz, H-4), 2.86 (1H, dd, $J=4.0, 16.5$ Hz, H-4), 4.18 (1H,

Table II. $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data of compounds 6-14 in DMSO- d_6 (δ values)

Carbon No.	6 ^a	7	8	9	10	11	12	13	14
2	78.4	83.6	146.9	157.1	157.2	156.1	156.2	81.7	78.9
3	42.2	72.6	135.9	133.6	134.2	133.3	133.9	67.4	66.4
4	195.8	196.8	176.0	177.9	177.7	177.3	177.4	27.4	28.3
5	163.6	158.7	156.3	161.4	161.3	161.2	161.2	156.0	156.4
6	96.1	95.2	98.3	98.9	98.6	98.6	98.6	96.0	96.3
7	166.6	158.3	164.0	164.4	164.1	164.1	164.0	155.6	155.9
8	95.1	95.2	93.5	93.8	93.6	93.4	93.3	95.5	95.8
9	162.7	153.6	160.9	156.5	156.4	156.2	156.2	156.0	156.4
10	101.9	100.9	103.1	108.0	104.0	103.9	104.0	101.4	100.6
1'	138.0	136.0	122.1	121.8	121.1	121.5	120.2	131.2	131.8
2'	126.5	128.7	115.2	115.8	115.4	115.1	108.8	115.7	115.2
3'	128.5	127.5	145.2	145.0	145.1	144.7	145.3	144.9	144.5
4'	128.5	129.4	147.8	148.6	148.4	148.4	136.6	145.1	144.7
5'	128.5	127.5	115.7	115.8	115.6	116.1	145.3	117.0	116.8
6'	126.5	128.7	120.1	121.2	120.7	121.1	108.8	120.8	119.8
1''				104.2	101.8	100.9	102.5		
2''				82.3	70.0	74.0	71.4		
3''				72.2	70.3	76.5	73.4		
4''				86.0	71.1	70.0	68.1		
5''				60.9	70.5	77.4	75.9		
6''					17.4	61.0	60.1		
-OCH $_3$		61.1							

^a : in CDCl $_3$

m, H-3), 4.81 (1H, s, H-2), 5.91 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-6), 5.94 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-8), 6.76 (1H, d, $J=8.0$, H-5'), 6.79 (1H, dd, $J=1.5, 8.3$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6): Table II.

화합물 1의 saponification - 화합물 1을 0.1N NaOH 용액에 녹여 수욕상에서 2시간 반응시킨 후 냉각하고 CHCl_3 과 MeOH로 재결정하여 흰색침상결정(1a)을 얻었다. 이를 TLC를 실시하여 확인한 결과 화합물 2와 일치함을 확인하였다(전개용매 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=10:0.1$).

화합물 5의 산 가수분해 - 화합물 5 10 mg을 취해 4N-HCl-50% dioxane (1:1) 용액 50 ml를 가하고 수욕상에서 4시간 가열 한 후 반응액에 빙수를 가해 석출하는 침전을 MeOH로 재결정하여 무색 침상결정을 얻었다. 이 화합물은 화합물 3과 동일물질임을 직접 대조하여 확인하였다. 수층은 Ag_2CO_3 를 가해 중화후 여과하고 농축하여 TLC (precoated cellulose plate, solvent: pyridine-EtOAc-HOAc- H_2O , 36:36:7:21)를 실시하여 D-glucose를 확인하였다.

화합물 9, 10, 11, 12의 산 가수분해 - 화합물 9 (20 mg), 10 (20 mg), 11 (20 mg) 그리고 12 (20 mg)을 각각 10% H_2SO_4 30 ml로 수욕상에서 환류냉각시키면서 5시간동안 가열, 가수분해 한 후 EtOAc로 이행시켜 용매를 유거한 잔사를 MeOH로 재결정하여 aglycone을 얻었고 화합물 9-11의 aglycone 모두 화합물 8과 동일물질임을 직접 대조에 의해 확인하였으며 화합물 12의 aglycone은 myricetin으로 확인하였다.

결과 및 고찰

한방에서 적양이라 불리는 사방오리 (*Alnus firma*)를 대상으로 그 활성화합물을 분리하여 IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 및 MS 등의 분광학적 방법에 의하여 그 구조를 결정하였다.

화합물 1은 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내고 IR spectrum에서 2920, 2850 cm^{-1} 에서 aliphatic C-H가 관측되었으며, 1730, 1245 cm^{-1} 에서 C=CH와 acetate의 C=O band가 775-810 cm^{-1} 에서 trisubstituted double bond의 흡수대가 관측됨으로써 acetyl기가 존재하는 triterpene로 추정하였다. $^1\text{H-NMR}$ 에서 8 mole의 angular methyl signal이 관측되었으며 그 중 전형적인 acetate의 $-\text{CH}_3$ 가 δ 2.05 ppm에서 관측되었고, oxymethine proton이 δ 4.50 ppm에서 triplet-like ($J=7.5$ Hz)에서, δ 5.18 (t-like, $J=3.5$ Hz)에서 olefinic proton이 각각 나타났다. Mass spectrum에서 M+1 peak가 m/z 469에서 그리고 $[\text{M-OAc}]^+$ 가 m/z 409에서 나타나고 retro-Diels-Alder fragmentation에 의한 m/z 218 (base peak) 피크가 관측되어 pentacyclic triterpene류로 추정하였으며 $^{13}\text{C-NMR}$ 에서 δ 121.6 (C-12), δ 145.2 (C-13) signal이 관측되므로써 이 화합물은 olean-12-ene의 acetate임을 알 수 있었다. 이로

써 화합물 1을 alkali 가수 분해하여 화합물 1a를 얻었고 이의 분광학적 특성을 비교한 결과 $^1\text{H-NMR}$ 에서 carbinol proton이 약 1.3 ppm 고자장 shift하여 δ 3.21 (1H, dd, $J=4.5, 11.5$ Hz, H-3)에서 나타나므로 OH기는 β -결합함을 알 수 있었다. 그리고 $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 C₂, C₃, C₄, C₂₄의 chemical shift가 화합물 1에 비해 +3.6, -2, +1.1, -1.2 ppm 각각 이동함으로써 화합물의 acetyl의 치환위치는 3번으로 추정되었으며⁹⁾ 이상의 결과를 종합하여 볼 때 이 화합물은 β -amyrin acetate (Fig. 1)임을 확인할 수 있었다. 이는 문헌치와의 비교에 의해서 확정할 수 있었다.¹⁰⁾

화합물 2는 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내고 IR, $^1\text{H-NMR}$ 이 화합물 1a와 일치하여 olean계 triterpene 화합물로 추정되었다. MS에서 그 분자이온이 m/z 426에서 나타나고 retro-Diels-Alder 분해에 의한 m/z 218 (base peak) 등으로부터 pentacyclic triterpene인 amyrin으로 그 구조를 접근하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서도 chemical shift가 화합물 1a와 일치하고 표준품과의 TLC 등 물리적 측정치가 완전히 일치하여, 문헌치의 data^{9,11)}와의 비교에 의해 β -amyrin으로 그 구조를 동정하였다.

화합물 3은 Liebermann-Burchard test에서 양성을 보이고 IR spectrum에서 hydroxyl group, double bond, trisubstituted double bond를 확인할 수 있었으며 $^1\text{H-NMR}$ 에서의 6개의 $-\text{CH}_3$ peak가 관측되었고 δ 3.52 ppm에서 oxymethine proton이 multiplet로, δ 5.35에서 trisubstituted double bond가 나타남으로써 이 화합물은 전형적인 sterol화합물임을 알 수 있었다. MS 분석에 의해서 β -sitosterol의 분자이온 peak가 m/z 414 (M^+)에서 나타났고 특징적인 fragment가 m/z 303 ($[\text{M}-\text{CH}_3-\text{A-ring}]^+$, 47) 관측되었으며,¹²⁾ campesterol, stigmasterol 등의 fragment는 없었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서도 순수한 β -sitosterol peak를 관측할 수 있었다.¹³⁾

화합물 4는 Liebermann-Burchard test에서 양성을 나타내고 IR에서 hydroxyl기에 기인한 3400, 1640과 892 cm^{-1} 에서 C=CH₂에 기인한 피크가 각각 관측되었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서는 δ 3.36 ppm에서 3개의 proton peak가 관측되어 OCH₃를 추정하였으며, δ 0.88-1.22 ppm에서 methyl로 추정되는 6개의 peak가 관측되었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서 이 식물의 고유의 C₃₁-secodammarane-type triterpenic acid peak가 관측되고 $^1\text{H-NMR}$ 에서 methoxyl기에 기인한 피크와 문헌치의 NMR data의 비교에서 alnustic acid의 acid기에 methyl기가 ester 결합하고 있는 methyl alnustate로 그 구조를 추정하였다. MS 분석결과에서도 methyl alnustate에 기인한 분자이온 피크가 m/z 485에서 관측되었고 fragment 패턴과 HMQC 분석 결과도 이를 뒷받침하고 있어 화합물 4는 alnustic acid methyl ester로 확인하였다.¹⁴⁾

화합물 5는 Liebermann-Burchard test 및 Molisch test에 각각 양성 반응을 나타내고 IR에서 hydroxyl group에 기인

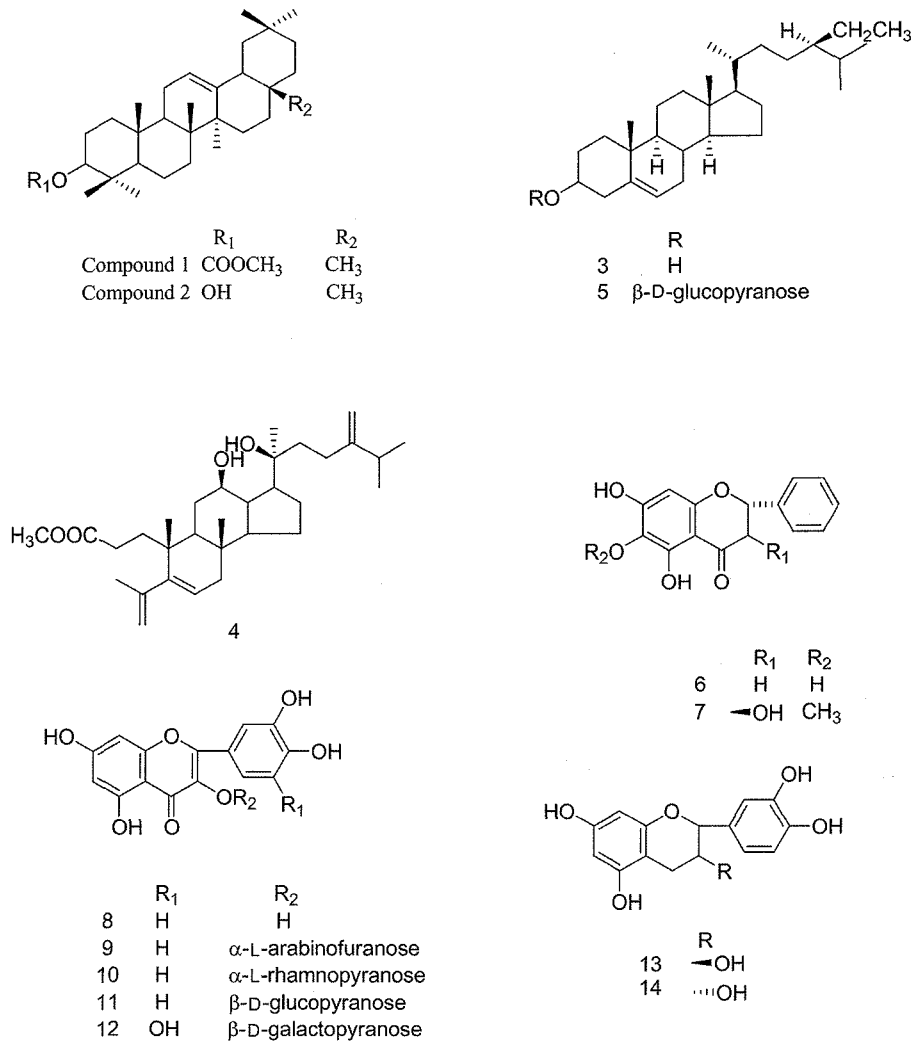


Fig. 1. Structures of compounds isolated from *Alnus firma*

한 흡수대와 double bond, glycosidic C-O의 흡수대 (1070, 1010 cm^{-1})가 관찰되어 steryl glycoside로 추정되었다. 따라서 화합물 5를 산 가수분해시켜 sterol과 당을 얻었으며 이중 sterol은 화합물 3과 물리적 성상과 분광학적 특성이 일치하여 β -sitosterol임을 알 수 있었으며 당부는 표준품과의 TLC에서 glucose임을 알 수 있었고 MS, $^1\text{H-NMR}$ data 등을 종합적으로 살펴보고 문헌치의 data¹³⁾와의 비교에 의해 화합물 5는 β -sitosterol 3-O- β -D-glucoside임을 확인하였다.

화합물 6은 FeCl_3 에서 양성 반응을 IR에서 hydroxyl에 기인한 흡수대가 3330 cm^{-1} 에서, 1620 cm^{-1} 에서 conjugated double bond에 의한 흡수대가 나타남으로써 페놀성 화합물로 추정하였으며, $^1\text{H-NMR}$ 에서 δ 6.59 ppm에서 meta coupling하는 2 mole의 proton이 관측되었고 δ 2.79 ppm과 3.2 ppm에서 geminal 및 vicinal protons의 peak가 관측되어 flavanone aglycone으로 예측되었다. 그리고 5 mole의 proton에 기인한 peak가 δ 7.44 ppm에서 관측되어 flavanone골격

의 B-ring이 치환되어 있지 않은 5, 7-dihydroxyflavanone으로 생각되었으며, $^{13}\text{C-NMR}$ 문헌치와 data 비교⁸⁾에 의해서 pinocembrin으로 동정할 수 있었다.

화합물 7은 FeCl_3 에서 양성 반응을 보이고 IR에서 화합물 6과 유사한 특성을 나타냈다. $^1\text{H-NMR}$ 에서도 5개의 proton에 기인한 peak가 δ 7.33 ppm에서 나타나 화합물 7은 6과 유사한 골격으로 생각되었으나 δ 4.40과 4.97의 proton이 12 Hz로 coupling하는 것으로 보아 이 화합물은 flavanone골격으로 예상하였다. δ 3.86 ppm에서 methoxyl기에 기인한 peak도 관측되어 이 화합물은 flavanol골격에 B-ring이 치환되지 않았고 methoxyl기를 가진 것으로 생각되었으며, methoxy의 치환 위치는 HMBC를 측정하여 C₆으로 결정하였다. 이로써 화합물 7은 5,7-dihydroxy-6-methoxyflavanone (alustinol)로 그 구조를 결정하였으며 문헌치의 data⁹⁾와 일치하였다.

화합물 8은 FeCl_3 에서 양성 반응을 나타내고 IR 흡수 spec-

trum이 페놀성 화합물의 특징을 보이며 $^1\text{H-NMR}$ 에서 meta coupling하는 2개의 proton [δ 6.18, 6.40 (1H each, d, $J=1.96$ Hz, H-6, 8)]과 ABX system의 coupling [δ 7.67 (1H, d, $J=1.96$ Hz, H-2'), δ 6.88 (1H, d, $J=8.56$ Hz, H-5'), δ 7.54 (1H, dd, $J=2.2, 8.56$ Hz, H-6')]은 식물체에 널리 분포되어 있는 flavonoid aglycone인 quercetin의 전형으로 보여졌다. $^{13}\text{C-NMR}$ 을 측정하여 문헌치¹⁵⁾와 비교한 결과 일치함을 알 수 있었고 표준품과의 대조에서도 이를 확인할 수 있었다.

화합물 9는 물리적 특성이 화합물 8과 유사하나 Molisch test에서 양성반응을 보이며, IR에서 glycosidic C-O와 $^1\text{H-NMR}$ 에서 당의 oxymethine proton이 관측되어 flavonoid 배당체임을 추정하였으며, 이를 산 가수분해하여 얻은 aglycone이 화합물 8과 일치되는 분광학적 특성을 보여 이 화합물의 aglycone은 quercetin임을 알 수 있었다. 당부와 aglycone의 결합위치는 shift reagent에 의한 UV spectra 검토¹⁶⁾와 화합물 9와의 $^{13}\text{C-NMR}$ 비교에 의해 3번 위치로 확정하였으며, $^1\text{H-NMR}$ 에서 당부의 anomeric proton의 coupling constant로 보아 α 결합을 시사하고 있어 화합물 9를 quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside로 그 구조를 결정하였으며 문헌치¹⁷⁾에서 이를 더욱 확고히 할 수 있었다.

화합물 10의 물리화학적 특성과 IR, $^1\text{H-NMR}$ 등 분광학적 특성이 화합물 9와 유사하였으며, aglycone과 당부의 결합위치는 $^{13}\text{C-NMR}$ 검토에 의해, 이들의 결합양식은 $^1\text{H-NMR}$ 에 의해 각각 결정하여 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (quercitrin)로 그 구조를 결정하였으며 표준품과의 직접비교와 문헌치¹⁵⁾와의 대조에 의해 이를 확정 할 수 있었다.

화합물 11 역시 화합물 10과의 물리적, 분광학적 특성이 유사하였으나 산 가수분해에서 얻은 당부의 TLC와 $^{13}\text{C-NMR}$ 의 data로 D-glucose임을 알 수 있었으며 aglycone과의 결합 위치와 양식을 UV, $^{13}\text{C-NMR}$ 및 $^1\text{H-NMR}$ 에 의해 결정하여 이 화합물은 quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (isoquercitrin)로 그 구조를 결정하였으며 문헌치¹⁵⁾와의 비교에서도 일치함을 볼 수 있었다.

화합물 12는 물리적 특성과 분광학적 특성이 flavonoid glycoside와 유사하였으나 산 가수분해에 의해 얻은 aglycone이 myricetin의 UV와 $^{13}\text{C-NMR}$ 의 문헌치^{16,18)}와 일치하였고, $^1\text{H-NMR}$ 에서 이의 근거를 확인 할 수 있었다. 당부는 D-galactose로 TLC와 $^{13}\text{C-NMR}$ 로 확인하여 이 화합물은 myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside로 구조를 결정하고 문헌치¹⁹⁾와 대조하였다.

화합물 13과 14는 prep. HPLC로 분리하였으며 FeCl_3 에서 양성과 1% vanillin/HCl에서 선홍색을 나타냄으로써 flavan-3-ol계인 catechin류로 추정하였다. $^1\text{H-NMR}$ 에서 5, 7, 3' 및 4'위치에 OH가 치환되었을 것으로 추정하였다. 화합물 13의 $^1\text{H-NMR}$ 에서 δ 2.50 (1H, dd, $J=8.0, 16.5$ Hz, H-4a), 2.84 (1H, dd, $J=5.3, 16.5$ Hz, H-4e) 및 4.56 (1H, d, $J=7.5$

Hz, H-2)은 이 화합물이 *trans*-catechin임을 추정케 하였으며, 화합물 14의 $^1\text{H-NMR}$ 에서 δ 2.73 (1H, dd, $J=3.0, 16.5$ Hz, H-4) 및 2.86 (1H, dd, $J=4.0, 16.5$ Hz, H-4)는 이 화합물이 *cis*-catechin임을 암시하고 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-NMR}$ 의 coupling constant로 보아 화합물 13는 (+)-catechin, 화합물 14는 (-)-epicatechin으로 각각 동정하였으며 문헌치²⁰⁾와도 일치하였다.

분리된 화합물중에서 화합물 9 (quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside)와 화합물 12 (myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside)는 이 식물에서 처음으로 분리하여 보고하였으며, 화합물 4는 Takayuki¹⁴⁾ 등이 alnustic acid를 CH_2N_2 로 methylation하여 보고한 적이 있으나 자연계에서는 처음으로 분리된 물질이다.

결 론

유용천연자원 탐색의 일환으로 사방오리 잎의 화학적 조성연구에 착수하여 14종의 화합물을 분리하고, IR, UV, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS 등의 분광학적 방법으로 그 구조를 결정하였으며, 이들 화합물의 구조는 β -amyrin acetate (1), β -amyrin (2), β -sitosterol (3), alnustic acid methyl ester (4), β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranoside (5), pinocembrin (6), alnustinol (7), quercetin (8), quercetin-3-O- α -L-arabinofuranoside (9), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (10), quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (11), myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside (12), (+)-catechin (13) 및 (-)-epicatechin (14)로 결정하였다.

사 사

이 논문은 순천대학교 2003년도 학술연구비 공모과제로 연구되었음.

인용문헌

1. 이창복 (1989) 대한식물도감. 269. 향문사, 서울.
2. 이창민, 신민교, 이경순, 안덕균 (1998) 중약대사전. 1837-1838. 도서출판정담, 서울.
3. Choi, S.C. and Kim, M.S. (1998) Studies on the dyeing properties of silk and cotton fabrics with *Alnus firma* fruit extract. *J. of the Korean Fiber Society*. **35**: 161-173.
4. Yoshinori, A. (1970) Chemical constituents of *Alnus firma* (Betulaceae). I. Phenylpropane derivatives isolated from *Alnus firma*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **43**: 2223-2229.
5. Masayasu, N., Takashi, T. and Takashi, K. (1981) Biarylheptanoids and other constituents from wood of *Alnus japonica*. *Phytochemistry*. **20**: 1097-1104.

6. Yohsinori, A. (1971) Chemical constituents of *Alnus sieboldiana* (Betulaceae). II. The isolation and structure of flavonoids and stilbenes, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **44**: 2761-2766.
7. Tadashi, A., Shinji, O. and Takayuki, S. (1990) Triterpenoids, diarylheptanoids and their glycosides in the flowers of *Alnus* species. *Phytochemistry*. **29**: 3611-3614.
8. Makoto, I., Takashi, T., Gen-Ichiro, N. and Itsuo, N. (1989) Alnusnins A and B from the leaves of *Alnus sieboldiana*. *Phytochemistry*. **28**: 3179-3184.
9. Kang, S.S. (1987) ¹³C-NMR spectroscopy of amyryns. *Kor. J. Pharmacogn.* **18**: 151-167.
10. Viqar Uddin Ahmad and Atta-Ur-Rhman (1994) Handbook of natural product data. vol. **2**: 163. Elsevier, Amsterdam.
11. Viqar Uddin Ahmad and Atta-Ur-Rhman (1994) Handbook of natural product data. vol. **2**: 21. Elsevier, Amsterdam.
12. Baek, W.S., Woo, W.S. and Yook, C.S. (1988) Studies on the constituents of the root of *Angelica flaccida* Kommarov. *Kor. J. Pharmacogn.* **19**: 233-238.
13. Kang, S.S., Kim, J.S., You-Choi, H.S. and Han, B.H. (1993) Phytochemical studies on *Paeoniae Radix*. *Kor. J. Pharmacogn.* **24**: 247-250.
14. Takayuki S., Tadashi A., Toshifumi H., Keiko A., and Yoshinori A. (1979) Structure of alnustic acid, a new secodamarane-type triterpenoic acid from *Alnus serrulatioides*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **52**: 1698-1700.
15. Park, J.C., Young, H.S., Yu, Y.B. and Lee, J.H. (1993) Studies on the chemical components and biological activities of edible plants in Korea (I). Phenolic compounds from the leaves of *Cedrela sinensis* A. Juss.. *Yakhak Hoeji*. **37**: 306-310.
16. Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. (1970) The systematic identification of flavonoid. 22-223. Springer, New York.
17. Agrawal, P.K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. 337-337. Elsevier, Amsterdam.
18. Agrawal, P.K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. 156. Elsevier, Amsterdam.
19. Agrawal, P.K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. 128. Elsevier, Amsterdam.
20. Lee, Y.A. and Lee, M.W. (1995) Tannins from *Rubus coreanum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**: 27-30.

(2007년 2월 5일 접수)