

## 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(XVIII)\*<sup>1</sup> - 다릅나무(*Maackia amurensis*) 수피의 추출성분의 분리 및 항산화 활성 -

김우진\*<sup>2</sup> · 이학주\*<sup>3†</sup> · 이상극\*<sup>3</sup> · 강하영\*<sup>3</sup> · 최돈하\*<sup>3</sup> · 최태호\*<sup>2</sup>

### Studies on Biological Activity of Wood Extractives (XVIII)\*<sup>1</sup> - Isolation and Antioxidant Activity of Chemical Constituents from *Maackia amurensis* -

Woo-Jin Kim\*<sup>2</sup> · Hak-Ju Lee\*<sup>3†</sup> · Sang-Keug Lee\*<sup>3</sup> ·  
Ha-Young Kang\*<sup>3</sup> · Don-Ha Choi\*<sup>3</sup> · Tae-Ho Choi\*<sup>2</sup>

### 요 약

다릅나무 수피를 채취하여 건조시킨 후 분말로 제조하여 95% 에탄올로 추출하고 석유에테르, 디클로로메탄 및 에틸아세테이트로 분획하여 동결건조시켰다. 디클로로메탄 가용부 및 에틸아세테이트 가용부를 Sephadex LH-20과 silica gel 60으로 충전한 칼럼에서 다양한 용매를 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 분리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, NOESY, HMQC, HMBC 등의 스펙트럼을 사용하여 정확한 구조를 구명하였고 FAB 및 EI-MS로써 분자량을 측정하였다. 기기분석 결과, 7-O-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6''')-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl-4',6-dimethoxyisoflavone으로 각각 동정하였다. 분리 물질의 항산화 활성은 DPPH 법에 의한 라디칼 소거능을 측정하였으며, 항산화 활성은 α-tocopherol보다 낮게 나타났지만 BHT와 비슷한 활성을 나타내었다.

\*<sup>1</sup> 접수 2007년 6월 14일, 채택 2007년 8월 14일

\*<sup>2</sup> 충북대학교 임산공학과, Wood Science & Engineering, Chungbuk National University, Chung-ju, Korea

\*<sup>3</sup> 국립산림과학원 화학미생물과, Div. Wood Chemistry & Microbiology Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

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

## ABSTRACT

The dried barks of *Maackia amurensis* were ground, extracted with 95% EtOH, concentrated, and fractionated with a series of light petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate and water on a separatory funnel. Each fraction was concentrated, then a portion of dichloromethane and ethyl acetate soluble was chromatographed on a Sephadex LH-20 and silica gel 60 column using a various solvent system as eluents. The isolated compounds were identified by cellulose TLC, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR, COSY, NOESY, HMQC, HMBC, FAB and EI-MS. The structures were determined as: 7-O-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6''')-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl-4'; 6-dimethoxyisoflavone. The Free radical scavenging activity using DPPH of the isolated compounds were similar with that of BHT but lower than of α-tocopherol.

**Keywords:** *Maackia amurensis*, bark, isoflavone, glucopyranosyl, DPPH. Free radical scavenging

## 1. 서 론

다릅나무(*M. amurensis*)는 콩과에 속하는 낙엽교목으로 높이가 15 m에 달하며 다릅나무속은 동아시아 온대에 8종류가 있고 우리나라에는 2종으로 다릅나무와 솔비나무가 있다. 잎은 호생(互生)하며 기수 1회우상복엽(奇數1回羽狀複葉)이고 소엽(小葉)은 타원형(橢圓形) 또는 긴 난형(卵形)이며 꽃은 7월에 피며 지름 8 mm로서 밀착한다. 종자는 길이 6 mm로서 신장형(腎臟形)에 가까우며 열매는 9월에 익는다. 잎 뒷면에 털이 있고 화서에 황갈색(黃褐色) 또는 회갈색(灰褐色)의 짧은 밀모(密毛)가 있는 것을 개물푸레나무, *M. amurensis* var. *buergeri* C. K. Schneid라고 한다(이창복, 1985). 예로부터 다릅나무 껍질, 가지, 잎 등은 약용으로 관절염, 진통제, 종양치료, 위약, 항궤양, 부인병 등에 사용하였다.

본 연구에서 isoflavonoid 계열 화합물에 관한 연구로는 Yenesew 등(1998)이 *Erythrina Sacleuxii*의 수피로부터 4개의 새로운 isoflavone 화합물을 단리하여 보고하였으며 Yadava와 Kumar (1999)는 *Agrotatum conyzoides*의 줄기로부터 1개의 새로운 isoflavone 배당체를 단리하여 보고한 바가 있다. 또한 Krishnaveni와 Rao (2000)은 *Pterocarpus santali-*

*nus*의 심재에서 새로운 isoflavone 화합물을 단리하여 6-hydroxy,7,2',4',5'-tetramethoxyisoflavone이라고 명명하였다. 공시수종인 다릅나무 추출성분에 대한 연구로는 Kulesh (1995년)가 심재에서 formononetin, genistein, retusin 등을 단리하였으며, 2001년에는 orobol, tektorigenin, (-)-medicarpin, (±)-vestitol 등을 단리하였고, 또한 새로운 isoflavonid 구조인 (±)-3-hydroxyvestiton을 단리하였다. Matsuura 등(1994)은 다릅나무 뿌리로부터 daidzein, formononetin 등과 같은 7 개의 기지물질과 새로운 prenylated flavanone 화합물인 8,5'-di(Y,Y-dimethylallyl)-5,2',4'-trihydroxy-7-methoxyflavanone (maackiaflavanone)을 단리하여 보고하였다. 같은 종에 속하는 솔비나무(*Maackia fauriei*) 심재의 추출성분에 대한 연구는 Hwang 등(1997년)은 (-)-maackiain, 4'-methoxyisoflavone-7-O-β-D-glucoside, 4',6-dimethoxyisoflavone-7-O-β-D-glucoside, 4'-hydroxy-isoflavone-7-O-β-D-glucoside, 2'-methoxy-4'-hydroxyisoflavone-6-O-β-D-glucoside를 단리하였다. 하지만, 국내의 다릅나무 추출성분에 대한 단리 및 구조 동정과 그에 따른 생리활성에 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구는 국내에 자생하는 다릅나무 추출물의 성분을 단리하여 NMR, mass 등의 기기분석

에 의해 화학구조를 구명하였다. 또한, 항산화 활성 시험을 통하여 기능성 소재로의 이용가능성에 대한 기초 자료를 얻고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

본 실험에 사용된 공시수종은 2004년 6월 경남 하동군 화계면 정금리 산 10번지에 있는 50년생(흉고 직경 30 cm) 다릅나무 수피를 사용하였다.

### 2.2. 추출 및 용매분획

다릅나무 수피는 실험실에서 음건시킨 후, 분쇄기를 사용하여 분말화하였다. 분말시료는 95% 에탄올(ethanol, EtOH)에 72시간 동안 실온에서 침지시켜 조추출물을 얻었으며 충분한 양을 얻기 위하여 이 조작을 3회 반복 실시하였다. 여기서 얻어진 조추출물은 석유에테르(light petroleum ether, LPE), 디클로로메탄(dichloromethane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc) 등의 용매를 순차적으로 연속 추출하여 분획하였다.

### 2.3. 기기분석

단리한 화합물의 질량(MS) 스펙트럼은 JEOL JMS-600W, 그리고 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR, Correlation Spectroscopy (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY), Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY), <sup>1</sup>H Detected Multiple Quantum Coherence (HMQC), <sup>1</sup>H Detected Multiple Bond Connectivity (HMBC) 등의 핵자기 공명(nuclear magnetic resonance, NMR) 스펙트럼은 한국기초과학지원연구원 서울분소의 Varian UI 500을 사용하였다.

### 2.4. 항산화 활성 검증

조추출물과 단리화합물을 25, 50, 75, 100 ppm의 농도로 만들어 4 ml씩 시험관에 넣고 1.5 × 10<sup>-4</sup> M의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 1 ml를 가하여 vortex mixer로 잘 섞어서 30분간 상온에서 반응시킨 다음, 반응액을 분광광도계(8452A Diode Array Spectrometer, Hewlett Packard CO.)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로는 천연항산화제인 α-tocopherol과 합성항산화제인 BHT (Butylated hydroxy toluene)를 사용하였다. Free radical scavenging (FRS) activity는 실험구와 대조구의 흡광도를 사용하여 다음과 같이 백분율로 나타내었다.

$$\text{Free radical Scavenging activity (\%)} = 1 - \frac{\text{실험구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

이 조작을 2회 반복하여 실시하였으며 FRS activity가 50%가 될 때의 농도인 IC<sub>50</sub> ppm을 구하였다.

### 2.5. 각 성분의 단리

#### 2.5.1. 화합물 1

다릅나무 수피의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 가용부(60.9 g)에 대해 EtOH을 용출용매로 한 Sephadex LH-20 column (8.0 × 43 cm)을 이용하여 250 ml씩 30개의 분취물을 얻었으며, 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 5개의 분획물(MABD-1 ~ MABD-5)로 나누었다. 이 중 MABD-2의 분획물(3.4 g)을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (5 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (6.0 × 37 cm)을 이용하여 100 ml씩 100개의 분취물을 얻었으며 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 8개의 분획물(MABD-2-1 ~ MABE-2-8)로 나누었다. 이 중 MABD-2-4의 분획물(44.0 mg)을 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (10 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (3 × 47 cm)을 이용하여 20 g씩 270개의 분취물을 얻었

으며 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 4개의 분획물(MABD-2-4-1 ~ MABD-2-4-4)로 나누었고, 이 중 MABD-2-4-3으로부터 화합물 I (16.9 mg)을 단리하였다.

EI-MS  $m/z$ : 430 ( $(M)^+$ ), 314, 298, 268 (base ion), 267, 253, 225, 197, 168, 132, 117. FAB-MS  $m/z$ : 431 ( $(M^+)$ ).  $^1H$ - $^1H$  COSY correlations: H-5 $\leftrightarrow$ H-6, H-2'/H-6' $\leftrightarrow$ H-3'/H-5', H-1'' $\leftrightarrow$ H-2'' H-6'' $\leftrightarrow$ H-6'''/H-5'', H-3'' $\leftrightarrow$ H-4'', H-4'' $\leftrightarrow$ H-5''. NOESY correlations: H-2 $\leftrightarrow$ H-2', H-8 $\leftrightarrow$ H-1'', H-3'/H-5' $\leftrightarrow$ OMe-4'. HMBC correlations: H-2 $\rightarrow$ C-4/C-9/C-1'/C-3, H-5 $\rightarrow$ C-4/C-7/C-9/C-6, H-2' $\rightarrow$ C-4'/C-6'/C-3'/C-3'/C-5', H-6' $\rightarrow$ C-4'/C-2'/C-3/C-3'/C-5', H-8 $\rightarrow$ C-7/C-9/C-10/C-6, H-6 $\rightarrow$ C-7/C-10/C-8, H-3' $\rightarrow$ C-4'/C-1', H-5' $\rightarrow$ C-4'/C-1', H-1'' $\rightarrow$ C-7/C-3'', OMe-4' $\rightarrow$ C-4', H-3'' $\rightarrow$ C-1''/C-4'', H-2'' $\rightarrow$ C-1''C-4'', H-5'' $\rightarrow$ C-1'', H-4'' $\rightarrow$ C-5''.

### 2.5.2. 화합물 II

MABD-2-7의 분획물(132.5 mg)을 benzene-MeOH (3 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (3  $\times$  45 cm)을 이용하여 10 g씩 380개의 분취물을 얻었으며 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 4개의 분획물(MABD-2-7-1 ~ MABD-2-7-4)로 나누었다. 이 중 MABD-2-7-2의 분획물(32.0 mg)을 benzene-MeOH (1 : 1, v/v)을 전개용매로 한 prep. TLC로 정제하여 화합물 II (6.1 mg)를 분리하였다.

EI-MS  $m/z$ : 592 ( $(M)^+$ ), 268 (base ion). FAB-MS  $m/z$ : 593 ( $(M+H)^+$ ). HMBC correlations: H-2 $\rightarrow$ C-4/C-9, H-5 $\rightarrow$ C-4/C-7/C-9, H-2'/H-6' $\rightarrow$ C-1', H-3'/H-5' $\rightarrow$ C-1', H-8 $\rightarrow$ C-6/C-10, H-6 $\rightarrow$ C-10, H-1'' $\rightarrow$ C-7, OMe-4' $\rightarrow$ C-4', H-6'' $\rightarrow$ C-5''/C-1''', H-1'' $\rightarrow$ C-6'', H-6'' $\rightarrow$ C-5''.  $^1H$ - $^1H$  COSY correlations: H-5 $\leftrightarrow$ H-6, H-2'/H-6' $\leftrightarrow$ H-3'/H-5', H-1'' $\leftrightarrow$ H-2'', H-5'' $\leftrightarrow$ H-4''.

### 2.5.3. 화합물 III

다릅나무 수피의 EtOAc 가용부(19.5 g)에 대해

benzene-MeOH (5 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (7  $\times$  50 cm)을 이용하여 250 ml씩 110개의 분취물을 얻었으며, 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 8개의 분획물(MABE-1 ~ MABE-8)로 나누었다. 이 중 MABE-7의 분획물(1.8 g)을  $CH_2Cl_2$ -MeOH (5 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (5.0  $\times$  53 cm)을 이용하여 20 g씩 540개의 분취물을 얻었다. 각 분취물은 UV로 검색하여 8개의 분획물(MABE-7-1 ~ MABE-7-8)로 나누었으며, MABE-7-7의 분획물(350.0 mg)에서 발생된 흰색 침상결정을 여과하여 화합물 III (13.0 mg)을 얻었다.

FAB-MS  $m/z$ : 755 ( $(M+H)^+$ ). HMBC correlations: H-1'' $\rightarrow$ C-7, H-1''' $\rightarrow$ C-6'', H-1'''' $\rightarrow$ C-6''', OMe-4' $\rightarrow$ C-4', H-5 $\rightarrow$ C-4/C-7/C-9, H-2 $\rightarrow$ C-3/C-4/C-9, H-2'/H-6' $\rightarrow$ C-1'/C-3, H-6 $\rightarrow$ C-7/C-10, H-3'/H-5' $\rightarrow$ C-1'/C-4', H-8 $\rightarrow$ C-6/C-7/C-9/C-10.

### 2.5.4. 화합물 IV

MABE-4의 분획물(6.8 g)에 대해  $CHCl_3$ -MeOH (10 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (5.5  $\times$  30 cm)을 이용하여 100 ml씩 90개의 분취물을 얻었으며, 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 5개의 분획물(MABE-4-1 ~ MABE-4-5)로 나누었다.

이 중 MABE-4-2의 분획물을 filter paper를 사용하여 여과한 후 MABE-4-2B의 분획물(1.9 g)을  $CH_2Cl_2$ -MeOH (10 : 1, v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (2.5  $\times$  25 cm)을 이용하여 20 g씩 90개의 분취물을 얻었다. 각 분취물은 UV로 검색하여 4개의 분획물(MABE-4-2B-1 ~ MABE-4-2B-4)로 나누었다. MABE-4-2B-2의 분획물(782.0 mg)을 다시 acetone-EtOAc-H<sub>2</sub>O (10 : 30 : 1, v/v/v)을 용출용매로 한 silica gel 60 column (3.0  $\times$  27 cm)을 이용하여 10 g씩 100개의 분취물을 얻었다. 각 분취물은 UV로 검색하여 5개의 분획물(MABE-4-2B-2-1 ~ MABE-4-2B-2-5)로 나누었으며, MABE-4-2B-2-3 분획물에서 화합물 IV (87.5 mg)를 단리하였다.

EI-MS  $m/z$ : 460 ( $(M)^+$ ), 429, 415, 355, 298

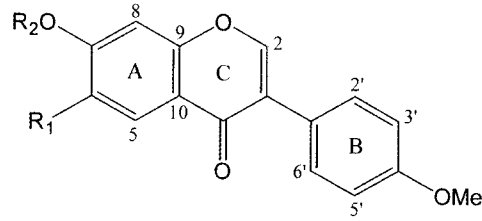
Table 1.  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data of compound I ~ IV (DMSO- $d_6$ )

	I		II		III		IV	
	$\delta$ H	$\delta$ C	$\delta$ H	$\delta$ C	$\delta$ H	$\delta$ C	$\delta$ H	$\delta$ C
2	8.45 <i>s</i>	153.75 <i>d</i>	8.38 <i>s</i>	153.57 <i>d</i>	8.38 <i>s</i>	153.67 <i>d</i>	8.41 <i>s</i>	153.26 <i>d</i>
3	-	123.41 <i>s</i>	-	123.34 <i>s</i>	-	123.44 <i>s</i>	-	122.77 <i>s</i>
4	-	174.74 <i>s</i>	-	174.72 <i>d</i>	-	174.85 <i>s</i>	-	174.25 <i>s</i>
5	8.06 <i>d</i>	127.03 <i>d</i>	8.06 <i>d</i>	127.07 <i>d</i>	8.06 <i>d</i>	127.13 <i>d</i>	7.48 <i>s</i>	104.78 <i>d</i>
6	7.15 <i>dd</i>	115.70 <i>d</i>	7.21 <i>dd</i>	115.54 <i>d</i>	7.20 <i>dd</i>	115.67 <i>d</i>	-	147.79 <i>s</i>
7	-	161.48 <i>s</i>	-	161.39 <i>s</i>	-	161.48 <i>s</i>	-	151.57 <i>s</i>
8	7.25 <i>d</i>	103.43 <i>d</i>	7.32 <i>d</i>	103.79 <i>d</i>	7.33 <i>dd</i>	103.86 <i>d</i>	7.32 <i>s</i>	103.44 <i>d</i>
9	-	157.10 <i>s</i>	-	157.02 <i>s</i>	-	157.13 <i>s</i>	-	151.20 <i>d</i>
10	-	118.48 <i>s</i>	-	118.49 <i>s</i>	-	118.56 <i>s</i>	-	117.80 <i>s</i>
1'	-	124.04 <i>s</i>	-	124.05 <i>s</i>	-	124.12 <i>s</i>	-	124.25 <i>s</i>
2'	7.54 <i>d</i>	130.15 <i>d</i>	7.53 <i>dd</i>	159.02 <i>d</i>	7.52 <i>dd</i>	130.15 <i>d</i>	7.53 <i>dd</i>	130.01 <i>d</i>
3'	7.00 <i>d</i>	113.68 <i>d</i>	7.00 <i>dd</i>	-	6.99 <i>dd</i>	113.73 <i>d</i>	7.00 <i>dd</i>	113.60 <i>s</i>
4'	-	159.06 <i>s</i>	-	-	-	159.10 <i>s</i>	-	158.94 <i>s</i>
5'	7.00 <i>d</i>	113.68 <i>d</i>	7.00 <i>dd</i>	113.64 <i>d</i>	6.99 <i>dd</i>	113.73 <i>d</i>	7.00 <i>dd</i>	113.60 <i>s</i>
6'	7.54 <i>d</i>	130.15 <i>d</i>	7.53 <i>dd</i>	130.07 <i>d</i>	7.52 <i>dd</i>	130.15 <i>d</i>	7.53 <i>dd</i>	130.01 <i>d</i>
4'-OMe	3.79 <i>s</i>	55.20 <i>q</i>	3.79 <i>s</i>	55.15 <i>q</i>	3.78 <i>s</i>	55.23 <i>q</i>	3.78 <i>s</i>	55.11 <i>q</i>
6'-OMe	-	-	-	-	-	-	3.88 <i>s</i>	55.83 <i>q</i>
1''	5.12 <i>d</i>	99.97 <i>d</i>	5.08 <i>d</i>	99.96 <i>d</i>	5.08 <i>d</i>	100.04 <i>d</i>	5.16 <i>d</i>	99.64 <i>d</i>
2''	3.32 <i>m</i>	76.50 <i>d</i>	3.31 <i>m</i>	73.15 <i>d</i>	3.32 <i>m</i>	73.17 <i>d</i>	3.31 <i>m</i>	73.00 <i>d</i>
3''	3.47 <i>m</i>	77.24 <i>d</i>	3.31 <i>m</i>	76.42 <i>d</i>	3.80 <i>m</i>	75.74 <i>d</i>	3.46 <i>m</i>	77.18 <i>d</i>
4''	3.18 <i>m</i>	69.63 <i>d</i>	3.28 <i>m</i>	69.87 <i>d</i>	3.47 <i>m</i>	69.91 <i>d</i>	3.17 <i>m</i>	69.58 <i>d</i>
5''	3.31 <i>m</i>	73.16 <i>d</i>	3.75 <i>m</i>	75.66 <i>d</i>	3.32 <i>m</i>	76.50 <i>d</i>	3.29 <i>m</i>	76.72 <i>d</i>
6''	3.48 <i>m</i> 3.73 <i>m</i>	60.66 <i>t</i>	3.62 <i>m</i> 3.99 <i>d</i>	68.45 <i>t</i>	3.63 <i>m</i> 3.99 <i>m</i>	69.07 <i>t</i>	3.47 <i>m</i> 3.70 <i>m</i>	60.51 <i>t</i>
1'''	-	-	4.21 <i>d</i>	103.66 <i>d</i>	4.21 <i>m</i>	103.75 <i>d</i>	-	-
2'''	-	-	3.01 <i>m</i>	73.61 <i>d</i>	2.99 <i>m</i>	73.70 <i>d</i>	-	-
3'''	-	-	3.09 <i>m</i>	76.91 <i>d</i>	3.07 <i>m</i>	76.96 <i>d</i>	-	-
4'''	-	-	3.13 <i>m</i>	70.20 <i>d</i>	3.18 <i>m</i>	70.16 <i>d</i>	-	-
5'''	-	-	3.07 <i>m</i>	76.70 <i>d</i>	3.07 <i>m</i>	76.78 <i>d</i>	-	-
6'''	-	-	3.44 <i>m</i> 3.68 <i>m</i>	61.11 <i>t</i>	3.43 <i>m</i>	59.69 <i>t</i>	-	-
1''''	-	-	-	-	3.60 <i>m</i>	72.02 <i>d</i>	-	-
2''''	-	-	-	-	3.36 <i>m</i>	70.99 <i>d</i>	-	-
3''''	-	-	-	-	3.34 <i>m</i>	72.47 <i>d</i>	-	-
4''''	-	-	-	-	3.11 <i>m</i>	70.28 <i>d</i>	-	-
5''''	-	-	-	-	3.34 <i>m</i>	72.67 <i>d</i>	-	-
6''''	-	-	-	-	3.42 <i>m</i> 3.67 <i>m</i>	61.19 <i>t</i>	-	-

Values are in ppm ( $\delta$  H and  $\delta$  C).  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra were measured at 500 MHz and 125 MHz, respectively

(base ion), 297, 283, 255, 240, 166, 149, 132, 123, 78, 63. FAB-MS  $m/z$ : 461 ( $[(\text{M}+\text{H})^+]$ ), 460 ( $[\text{M}]^+$ ).  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY correlations: H-2'/H-6' $\leftrightarrow$ H-3'/H-5', H-1'' $\leftrightarrow$ H-2'', H-6'' $\leftrightarrow$ H-6'''/H-5'''. HMBC correlations: H-2 $\rightarrow$ C-4/C-9/C-1'/C-3, H-2' $\rightarrow$ C-4'/C-3, H-6' $\rightarrow$

C-4'/C-3, H-5 $\rightarrow$ C-4/C-9/C-6/C-10, H-8 $\rightarrow$ C-9/C-6/C-10), H-3' $\rightarrow$ C-4'/C-1', H-1'' $\rightarrow$ C-6, OMe-6 $\rightarrow$ C-6), OMe-4' $\rightarrow$ C-4', H-6'' $\rightarrow$ 5'', H-3'' $\rightarrow$ C-5''.



Compound I	R <sub>1</sub> =H,	R <sub>2</sub> =Glc
Compound II	R <sub>1</sub> =H,	R <sub>2</sub> =Glc(1''→6'')-Glc
Compound III	R <sub>1</sub> =H,	R <sub>2</sub> =Glc(1'''→6''')-Glc(1''→6'')-Glc
Compound IV	R <sub>1</sub> =OMe,	R <sub>2</sub> =Glc

Fig. 1. Compounds isolated from the bark of *M. amurensis*.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 화합물 I

화합물 I 은 methoxyl group과 β-D-glucose가 각각 한 개씩 결합하고 있으며 B환이 기존의 flavone 화합물과 달리 C-2가 아닌 C-3에 결합하고 있는 isoflavonoid 형태의 화합물이다.

<sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 벤젠핵에서 유래하는 7개의 proton signal을 확인하였다. 이 중 δ 7.00 (2H, *d*, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), δ 7.54 (2H, *d*, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6')의 signal을 B환의 proton으로 귀속하고, 이들 proton과 NOESY spectrum에서 상관 peak가 나타난 δ 3.79 (3H, *s*, OMe-4')의 signal을 통해 methoxyl group이 C-4' 위치에 결합하고 있음을 확인하였다. 특히, 이들 peak들은 서로 대칭이기 때문에 하나의 signal로 나타나는 특징을 보이며 김 (2006)이 보고한 flavone 화합물인 kaempferol의 B 환과 동일한 값을 나타내고 있다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 δ 153.75와 δ 123.41 signal은 C-2와 3에 해당하는 것으로 B환이 C-3에 결합하고 있기 때문에 flavone 화합물의 C-2보다는 5.0 ppm upfield되고 C-3보다는 13.0 ppm 정도 downfield되어 나타나고 있으며 C-4 역시 3~5 ppm 정도 downfield되었다. 이것은 Tostes 등(1999)과 Krishnaveni와 Rao (2000)가 보고한 isoflavone 화합물과도 일치하였다. 또한, H-2'가 δ 8.45 (1H, *s*, H-2) signal과

NOESY spectrum에서 상관 peak를 나타내었으므로 B환의 proton의 결합 위치를 알 수 있었으며 δ 7.15 (1H, *dd*, *J* = 2.5, 8.5 Hz, H-6), δ 7.25 (1H, *d*, *J* = 2.5 Hz, H-8), δ 8.06 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz H-5)의 aromatic proton signal의 결합정수로 A환의 proton의 결합 위치를 확인하였다. 우선 결합정수 *J* = 2.5 Hz를 나타내는 signal은 *meta* 결합을 하고 있는 H-8에 귀속하고, 결합정수 *J* = 2.5, 8.5 Hz의 signal은 *meta*, *ortho* 결합을 하고 있는 H-6에 귀속하였다. 마지막으로 결합정수 *J* = 8.5 Hz의 signal은 *ortho* 결합을 하고 있는 H-5에 귀속하였다. H-5와 H-6은 COSY spectrum에서 상관 peak가 확인되었으며, H-5는 C-4 carbonyl group과 HMBC에서 교차 peak가 확인되어 그 위치를 확인하였다. 당의 결합위치를 확인하기 위하여 anomeric proton인 δ 5.12 (1H, *d*, *J* = 7.5 Hz, H-1'') signal의 HMBC spectrum을 분석한 결과, <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 나타난 δ 161.48 (*s*, C-7) signal과 교차 peak를 보였다. 교차 peak를 보인 이 carbon signal은 A환의 H-5, H-6, H-8과도 모두 교차 peak를 나타내었으므로 당이 C-7 위치에 결합하고 있음을 알 수 있었다.

EI-MS spectrum에서 분자 ion peak는 *m/z* 430 ([M]<sup>+</sup>)으로 이 화합물의 분자량과 일치하였으며 이상의 분석결과 화합물 I 은 7-O-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone로 구조를 구명하였다.

### 3.2. 화합물 II

흰색 분말로 단리된 화합물 II는 화합물 I과 같이 aglycone이 isoflavonoid의 기본 구조이며 C-4'에 methoxyl group이 한 개, C-7에 glucose가 두 개 결합하고 있는 형태의 화합물이다. 따라서 화합물 I과 NMR 값은 거의 일치하고 있으며 당의 결합 형태만 차이를 보이고 있다.

DEPT (45°, 90°, 135°)법에 의한 화합물 II의 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서는 primary carbon이 18개, secondary carbon이 2개, tertiary carbon이 1개, quaternary carbon 7개로, 총 28개의 signal이 나타났다. 화합물 I의 A환, B환, C환의 구조가 동일하기 때문에 그에 상응하는 signal은 앞의 화합물 I과 같은 방법으로 귀속하였다. 당의 부분 구조에서 TOCSY spectrum을 통해 이들의 연결 상태를 확인하였다. 두 번째 당의 anomeric proton인 δ 4.21 (1H, *d*, *J* = 7.5 Hz, H-1'') signal의 HMBC spectrum을 분석한 결과 이 anomeric proton이 δ 68.45 (*t*, C-6'')에서 나타난 signal과 교차 peak를 보였다. 이로써 두 번째 당이 첫 번째 당의 C-6''번 위치에 결합하고 있음을 알 수 있었으며 이것은 Rukachaisirikul 등 (2002)이 단리한 isoflavone 화합물과 유사한 형태를 나타내었다.

EI-MS spectrum에서 분자 ion peak는 *m/z* 592 (M<sup>+</sup>)로서 이 화합물의 분자량과 일치하였으며 이상의 분석결과, 화합물 II는 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone임을 확인하였다.

### 3.3. 화합물 III

화합물 III 역시 isoflavonoid A환, B환, C환의 구조는 화합물 I과 동일하다. 화합물 I의 구조에 당이 두 개 더 결합되어 있는 구조로 그에 상응하는 signal은 화합물 I과 같은 방법으로 귀속하였다. 앞의 화합물과 차이를 보이고 있는 당이 결합하고 있는 곳의 정확한 위치 확인을 위해 HMBC spectrum을 분석한 결과, 두 번째 당의 anomeric proton인 δ

4.21 (1H, *m*, H-1''') signal이 δ 59.69 (*t*, C-6''')에서 나타난 signal과 교차 peak를 보였고, 세 번째 당의 anomeric proton인 δ 3.43 (1H, *m*, H-6''') signal이 δ 72.02 (*d*, C-1''') signal과 교차 peak를 보였다. 이로써 두 번째 당이 첫 번째 당의 C-6'' 위치에, 세 번째 당이 두 번째 당의 C-6''' 위치에 결합하고 있음을 알 수 있었다.

FAB-MS spectrum에서 분자 ion peak는 *m/z* 755 ((M+H)<sup>+</sup>)로서 이 화합물의 분자량 754와 일치하였으며 이상의 결과, 화합물 III은 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6''')-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone으로 구조를 증명하였다.

### 3.4. 화합물 IV

화합물 IV는 isoflavone 구조의 C-6과 C-4'에 methoxyl group이, C-7에 glucose가 결합하고 있는 형태의 화합물로서 화합물 I, II, III과는 A환에서 차이를 보이고 있다.

<sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 δ 8.41 (1H, *s*, H-2)의 singlet signal은 isoflavonoid 화합물의 특징적인 signal로 이를 확인하여 화합물 IV가 isoflavonoid의 구조임을 확인하였다. Aromatic proton이면서 singlet signal인 δ 7.32 (1H, *s*, H-8), δ 7.48 (1H, *s*, H-5)의 signal은 C-6에 methoxyl group이 결합하고 있기 때문에 singlet으로 각각 나타나고 있으며 isoflavonoid A환의 H-8과 H-5에 각각 귀속하였다. 2H에 해당되는 aromatic proton 영역의 δ 7.00 (2H, *dd*, *J* = 2.0, 7.0 Hz, H-3', H-5'), δ 7.53 (2H, *dd*, *J* = 2.0, 7.0 Hz, H-2', H-6')의 signal은 결합정수가 *J* = 2.0 Hz와 *J* = 7.0 Hz로 *ortho*, *meta* 결합을 하고 있어 B환의 대칭구조인 H-3', H-5'와 H-2', H-6'에 각각 귀속하였다.

HMBC spectrum에서 H-5와 H-8에 귀속한 signal과 동시에 교차 peak를 나타낸 carbon signal은 δ 117.80 (*s*, C-10), δ 151.20 (*d*, C-9) 두 개다. 이중 H-2와 교차 peak를 나타내지 않은 δ 117.80 (*s*, C-10)의 signal을 C-10에 귀속하고, H-2와 교차

Table 2. Free radical scavenging activity of controls

Compounds	Solvent	Free radical scavenging activity (%)				IC <sub>50</sub> (ppm)
		25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	
<i>α</i> -tocopherol	MeOH	81.8	95.5	95.7	95.7	211
	DMSO	67.4	73.1	74.1	75.7	373
BHT	MeOH	76.3	90.7	92.9	95.0	246
	DMSO	36.7	36.9	38.3	38.8	96.0

peak를 나타낸  $\delta$  151.20 (*d*, C-9) signal을 C-9에 귀속하였다.  $\delta$  3.78 (3H, *s*, OMe-4')의 3H에 해당하는 singlet signal은 methoxyl group의 proton에서 기인하는 것으로서 HMBC spectrum에서 H-3', H-5'와 H-2', H-6' 그리고 C-4'와 교차 peak를 나타내었다. 이로써 C-4' 위치에 methoxyl group이 결합하고 있음을 알 수 있었다. 또한  $\delta$  5.16 (1H, *d*,  $J = 7.5$  Hz, H-1'')의 결합정수  $J = 7.5$  Hz의 signal은 당의 anomeric proton으로 이 화합물에 당이 결합하고 있음을 알 수 있다. H-5, H-8의 aromatic proton과 당의 anomeric proton인 H-1'' 및  $\delta$  3.88 (3H, *s*, OMe-6)의 methoxyl group proton의 HMBC spectrum을 분석한 결과, C-6에는 methoxyl group이 결합하고 있고, C-7에는  $\beta$ -D-glucose가 결합하고 있음을 확인하였다.

EI-MS spectrum에서 분자 ion peak는  $m/z$  460으로 이 화합물의 분자량과 일치하였고, base ion peak는  $m/z$  298로서 이것은 isoflavonoid aglycone의 분자량임을 알 수 있었다. 이상의 결과 및 Tostes 등 (1999)과 Park 등(1999)이 보고한 화합물과 분석한 결과 화합물 IV를 7-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-4',6-dimethoxyisofalvone으로 구조 구명하였다.

### 3.5. 추출물의 항산화 활성

항산화 활성은 다릅나무 수피, 목부의 각 분획물과 단리물질을 대조구인 천연 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol과 합성 항산화제인 BHT를 사용하여 free radical scavenging (FRS) activity (%)와 IC<sub>50</sub> (ppm)을 구하여 그 결과를 정리하였다.

Table 1은 MeOH과 DMSO를 기본 용매로 사용했

을 때의 FRS activity와 FRS activity가 50%될 때의 농도인 IC<sub>50</sub>을 나타내었다. MeOH을 기본용매로 사용했을 때는 두 대조구 모두 높은 활성을 나타내었지만, 단리화합물은 DMSO에만 용해되어 대조구와 비교하기 위해 기본 용매로 DMSO를 사용한 결과, MeOH을 사용했을 때와 마찬가지로 농도가 증가할수록 활성이 증가하는 경향을 나타내었지만, 용매에 따른 흡광도가 다르기 때문에  $\alpha$ -tocopherol의 경우 100 ppm에서 20%, BHT의 경우 56%나 활성이 낮게 나왔다.

#### 3.5.1. 추출물과 분획물

다릅나무 수피의 조추출물과 분획물은 MeOH을 기본 용매로 사용하였으며, EtOH 조추출물(MAB-EtOH), 석유에테르(MABL), 디클로로메탄(MABD), 에틸아세테이트(MABE), 잔여물(MABR)에 대한 FRS activity의 결과는 Fig. 2와 같다.

추출물 및 분획물 모두 농도가 증가할수록 FRS activity는 증가하였으나, 대조구보다는 활성이 낮은 것으로 나타났다. MABE와 MABR의 항산화 활성은 거의 없는 것으로 나타났다.

#### 3.5.2. 단리화합물

다릅나무 수피에서 단리된 총 4개의 화합물은 MeOH에 녹지 않아 모두 기본 용매로 DMSO를 사용하였다. Fig. 3은 단리한 화합물 I (MAB-I), 화합물 II (MAB-II), 화합물 III (MAB-III), 화합물 IV (MAB-IV)에 대한 FRS activity의 결과를 그래프로 정리한 것이다.

다릅나무 수피 단리화합물의 항산화 활성은 천연 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol보다 낮게 나타났지만 합성



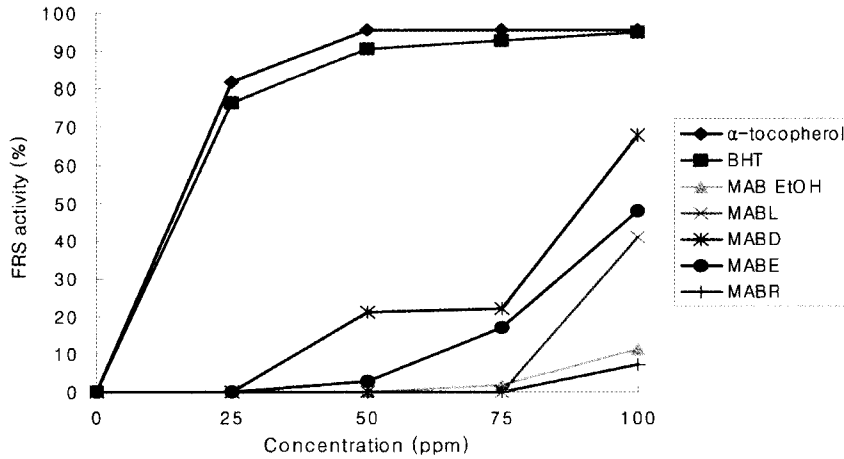


Fig. 2. FRS activity of the extracts and fractions from *M. amurensis* bark.

Table 3. IC<sub>50</sub> of the extracts and fraction from *M. amurensis* bark

Compounds	MAB-EtOH	MABL	MABD	MABE	MABR
IC <sub>50</sub> (ppm)	526.1	177.1	98.4	130.9	898.2

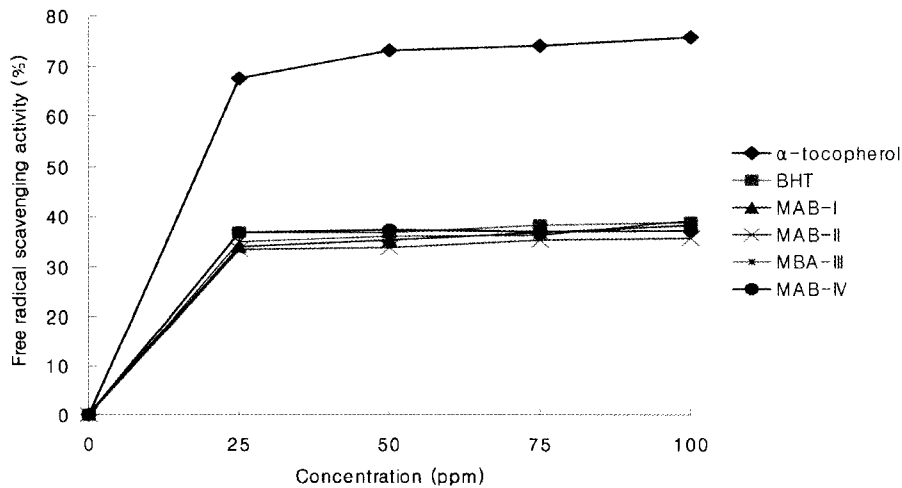


Fig. 3. FRS activity of the compounds from *M. amurensis* bark.

항산화제인 BHT와 비슷한 활성을 나타냈다. IC<sub>50</sub>의 값에서 보면 MAB-I이 116.7 ppm, MAB-II가 126.6 ppm을 나타내 결합수가 증가할수록 활성이 약간 감소하는 것을 알 수 있었다. 나머지 MAB-III과 MAB-IV는 각각 114.8 ppm과 118.2 ppm으로 큰 차이가 없었다.

## 4. 결 론

다릅나무 수피의 EtOH 조추출물로부터 Sephadex LH-20 및 silica gel 칼럼 크로마토그래피 등을 이용하여 4종의 페놀성 화합물을 분리하였다. 단리 화합

물은 NMR, MS 등의 기기분석 결과, 7-O-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl(1'''→6''')-β-D-glucopyranosyl(1'''→6'')-β-D-glucopyranosyl-4'-methoxyisoflavone, 7-O-β-D-glucopyranosyl-4',6'-dimethoxyisoflavone으로 각각 동정하였다. 이들 단리 물질의 항산화 활성은 라디칼 소거능으로 측정하였으며, 항산화 활성은 α-tocopherol보다 낮게 나타났지만 BHT와 비슷한 활성을 나타내었다.

## 참 고 문 헌

1. Kulesh, N. I., V. A. Denisenko, and O. B. Maksimov. 1995. Stilbenolignan from *Maackia Amurensis*. *Phytochemistry*. 40(3): 1001~1003.
2. Kulesh, N. I., O. B. Maksimov, V. A. Denisenko, and V. P. Glazunov. 2001. Isoflavonoids from Heartwood of *Maackia amurensis* RUPR. ET MAXIM. *Chemistry of Natural Compounds*. 37(1): 29~31.
3. Hwang, M. H., Y. S. Kwon, and C. M. Kim. 1997. Isoflavone Compound of the heartwood of *Maackia fauriei*. *Yakhak Hoeji*. 41(4): 444~449.
4. Kim, S. M., Y. S. Cho, and S. K. Sung. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33(6): 626~632.
5. Krishnaveni, K. S. and J. V. S. Rao. 1999. An isoflavone from *Pterocarpus santalinus*. *Phytochemistry*. 53: 605~606.
6. Matsuura, N., R. Nakai, M. Inuma, T. Tanaka, and K. Inoue. 1994. A prenylated flavanone from roots of *Maackia amurensis* subsp. *Buergeri*. *Phytochemistry*. 36(1): 255~256.
7. Park, H. J., J. H. Park, J. O. Moon, K. T. Lee, W. T. Jung, S. R. Oh, and H. K. Lee. 1999. Isoflavone glycosides from the flowers of *Pueraria thunbergiana*. *Phytochemistry*. 51: 147~151.
8. Rukachaisirikul, V., Y. Sukpondma, C. Jansakul, and W. C. Talyor. 2002. Isoflavone glycosides from *Derris scandens*. *Phytochemistry*. 60: 827~834.
9. Tostes, J. B. F., A. J. R. Silva, and J. P. Parente. 1999. Isoflavone glycosides from *Centrosema pubescens*. *Phytochemistry*. 50: 1087~1090.
10. Yadaba, R. N. and S. Kumar. 1999. A novel isoflavone from the stems of *Ageratum conyzoides*. *Fitoterapia*. 70: 475~477.
11. Yenesew, A., J. O. Midiwo, M. Heydenreich, and M. G. Peter. 1998. Four Isoflavones from the Stem Bark of *Erythrina Sacleuxii*. *Phytochemistry*. 49(1): 247~249.
12. Yoshida, T. K., M. T., Hatano, T., Okumura, I. Uehara, K. Komagoe, Y. Fujita, and T. Okuda. 1989. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37(7): 1919~1921.
13. Barreno, A. F., J. F. Sanchez, A. Barron, F. Corrales, and I. Rodriguez. 1989. Resorcinol derivatives and other components of *Ononis speciosa*. *Phytochemistry*. 28: 161~164.
14. 김진규. 2006. 국내산 참나무속 수종의 수피와 잎의 추출성분 및 생리활성에 관한 연구. 강원대학교 박사학위 논문.
15. 이창복, 1985. *대한식물도감*. 향문사. p. 467.