

## 생강나무 (*Lindera obtusiloba* Blume) 목부로부터 Flavonoid 및 Lignan 화합물의 분리

서경화<sup>1</sup> · 백미영<sup>1</sup> · 이대영<sup>1</sup> · 조진경<sup>1</sup> · 강희철<sup>2</sup> · 안은미<sup>3</sup> · 백남인<sup>1</sup> · 이윤형<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 한방재료공학학과, <sup>2</sup>(주)지에프씨, <sup>3</sup>대구한의대학교 한방식품약리학과, <sup>4</sup>경희대학교 원예생명공학과

### Isolation of Flavonoids and Lignans from the Stem Wood of *Lindera obtusiloba* Blume

Kyeong-Hwa Seo<sup>1</sup>, Mi-Young Baek<sup>1</sup>, Dae-Young Lee<sup>1</sup>, Jin-Gyeong Cho<sup>1</sup>, Hee-Cheol Kang<sup>2</sup>,  
Eun-Mi Ahn<sup>3</sup>, Nam-In Baek<sup>1</sup>, and Youn-Hyung Lee<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Oriental Medicinal Materials & Processing, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Republic of Korea

<sup>2</sup>GFC Co., Ltd., Suwon 443-813, Republic of Korea

<sup>3</sup>Department of Herbal Foodceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Republic of Korea

<sup>4</sup>Department of Horticultural Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Republic of Korea

Received July 11, 2011; Accepted August 31, 2011

The stem woods of *Lindera obtusiloba* Blume were extracted in 80% aqueous methanol and the concentrated extract was partitioned with ethyl acetate (EtOAc), butanol (*n*-BuOH), and H<sub>2</sub>O, successively. From the EtOAc and *n*-BuOH fractions, five compounds were isolated through the repeated silica gel, octadecyl silica gel, and Sephadex LH-20 column chromatographies. On the basis of spectroscopic data including mass spectrometry, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, distortionless enhancement by polarization transfer, and two-dimensional-NMR gradient correlated spectroscopy (gCOSY), gradient heteronuclear single quantum correlation (gHSQC), gradient heteronuclear multiple bonding connectivity (gHMBC), the chemical structures of the compounds were determined as asarinin (1), (+)-catechin (2), (-)-epicatechin (3), hyperin (4), and nudiposide (5). Compounds 1 and 5 were isolated for the first time from the stem wood of *L. obtusiloba* Blume.

**Key words:** asarinin, (+)-catechin, (-)-epicatechin, hyperin, *Lindera obtusiloba*, nudiposide

### 서 론

생강나무(*Lindera obtusiloba* Blume)는 녹나무과(Lauraceae)에 속하는 낙엽관목으로 우리나라 전역에 분포하고 있으며, 일본, 중국에도 자생하고 있다. 높이는 약 7 m이고, 수피는 흑회색이다. 생강나무는 황색 꽃이 잎보다 먼저 3~4월에 개화한다[Kim 등, 1996]. 열매는 장과[漿果]로 청색에서 붉은색으로 변하다가 9월~10월에 흑색으로 익는다[Hong 등, 1987]. 가지를 꺾거나 문지르면 생강냄새가 나므로 생강나무라고 한다[Lee 등, 2003]. 관상용으로도 자주 재배되며, 예로부터 약용으로도 사용되어 왔다. 지금까지 분리 보고 된 성분으로는 목부에서는 daucosterol, leonuriside A 및 3,4-dihydroxyphenethyl glycoside[Seo 등, 2010]가 분리되었고, 잎에서는 germacrene B,  $\beta$ -caryophyllene,

phytol isomer 및 (-)- $\beta$ -elemene 등의 정유성분과[Kwon 등, 2007], flavonoid 화합물인 quercitrin, hyperoside가[Park 등, 1996] 보고 되었고, 줄기에서는 secoisolaricresinol등 3종이[Lee 등, 2010], 가지에서는 (+)-syringaresinol, actifolin 등과 같은 lignan 화합물[Kwon 등, 1999]이 분리 보고 되었다. 생강나무의 추출물 및 분리한 화합물에 대하여 항산화 활성과 미백효과[Bang 등, 2008], 혈압상승 억제효과[Lee 등, 2011], 신경보호작용[Lee 등, 2010], 알레르기성 염증반응 억제효과[Kim 등, 2009] 등의 다양한 생리학적 활성을 갖고 있는 것으로 보고되어 있다.

저자는 생강나무의 목부로부터 이차대사산물을 분리하고 각 물질에 대한 성분분석을 통해 생강나무로부터 기능성 화장품 및 의약품 소재로서의 활용 방안을 모색하고자 본 실험을 수행하였다. 생강나무 목부를 methanol (MeOH)로 추출하고 용매 분획 한 후 얻어진 ethyl acetate (EtOAc) 분획과 butanol (*n*-BuOH) 분획에 대하여 여러 가지 resin을 사용한 컬럼 크로마토그래피를 반복 실시하여 2종의 lignan과 3종의 flavonoid 화합물을 분리 하였다. 분리한 화합물에 대하여 NMR, IR, mass

\*Corresponding author

Phone: +82-31-201-2670; Fax: +82-31-201-2157

E-mail: younlee@khu.ac.kr

<http://dx.doi.org/10.3839/jabc.2011.030>

spectrometry (MS) 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 화학 구조를 동정하였다. 분리한 화합물 중 2종은 생강나무에서는 이번 실험에서 처음 분리 되었다.

### 재료 및 방법

**기기 및 시약.** Column chromatography (c.c.)에는 silica gel (Kiesel gel 60, Merck, Darmstadt, Germany), ODS (Lichroprep RP-18, 40-60  $\mu$ m, Merck), Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) 및 SNAP Cartridge KP-Sil 100 g (Biotage®, Uppsala, Sweden)을 사용하였다. Thin layer chromatography (TLC)는 silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck)와 DC-Fertigplatten RP-18 F<sub>254S</sub> (Merck)를 사용하여 실험하였다. NMR는 400 MHz FT-NMR spectrometer (Varian Inova AS-400, Palo Alto, CA)로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B (Waltham, MA)로 측정하였다. 비선광도는 polarimeter P-1020 (JASCO, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, MS spectrum은 Fast atom bombardment ionization mass spectrometry (FAB/MS)와 electronic ionization mass spectrometry (EI/MS)는 JMSAX 700 (JEOL, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정하였다. UV lamp는 Spectrolone (Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, Westbury, NY)을 사용하여 측정하였다. 용점은 Fisher-John's Melting Point Apparatus (Fisher Scientific, Miami, FL)를 사용하여 측정하였으며, 미보정하였다.

**실험 재료.** 본 실험에서 사용한 생강나무(*L. obtusiloba* Blume)는 2009년 8월에 경기도 수원에 소재한 GFC Co., Ltd.에서 제공받았고, 표본시료(KHU-NPCL-200910)는 경희대학교 천연물화학실에 보관되어 있다.

**생강나무 목부의 용매 추출 및 분획.** 분쇄한 생강나무 목부 500 g을 80% MeOH (3 L $\times$ 2)로 실온에서 24시간 추출한 후 여과지로 여과하였다. 얻어진 여액을 감압 농축하여 MeOH 추출물(41 g)을 얻었다. 얻어진 추출물은 H<sub>2</sub>O (2 L)와 EtOAc (2 L $\times$ 2)로 분배 추출하였고, H<sub>2</sub>O 층은 다시 *n*-BuOH (0.9 L $\times$ 2)로 분배 추출하였다. 각 층을 감압 농축하여 EtOAc 분획(LOE, 7 g), *n*-BuOH 분획(LOB, 11 g)과 H<sub>2</sub>O 분획(LOH, 23 g)을 얻었다.

**EtOAc 분획으로부터 화합물의 분리.** EtOAc 분획(7 g)에 대하여 SNAP Cartridge KP-Sil 100 g Biotage®를 이용하여 c.c.를 하였다. 용출용매는 *n*-hexane-EtOAc (4:1)로부터 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (50:1 $\rightarrow$ 35:1 $\rightarrow$ 20:1 $\rightarrow$ 13:1 $\rightarrow$ 8:1 $\rightarrow$ 5:1)과 같이 gradient를 이용하였다. 얻어진 분획을 TLC로 분석하여 유사한 분획을 합하고 농축하여 12개의 분획(LOE-1~LOE-12)을 얻었다. 이 중에서 LOE-4 [473 mg, elution volume/total volume (Ve/Vt) 0.177-0.314]분획에 대하여 ODS c.c. [ $\phi$  3.5 $\times$ 6.5 cm, acetone-H<sub>2</sub>O (2:3)]를 실시하여 13개의 분획(LOE-4-1~LOE-4-13)으로 나누었고, 화합물 1 [LOE-4-7, 8 mg, Ve/Vt 0.186-0.218, TLC (ODS F<sub>254S</sub>), R<sub>f</sub> 0.26, acetone-H<sub>2</sub>O (2:1)]을 분리하였다. LOE-6 [1.3 g, Ve/Vt 0.451-0.557]분획에 대하여 SiO<sub>2</sub> c.c. [ $\phi$  4.5 $\times$ 11.0 cm, CHCl<sub>3</sub>-MeOH (5:1)]를 실시하여 6개의 분획(LOE-6-

1~LOE-6-6)으로 나누었고, 다시 LOE-6-2 [815 mg, Ve/Vt 0.222-0.305]분획에 대하여 ODS c.c. [ $\phi$  4.0 $\times$ 4.5 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:2 $\rightarrow$ 1:1 $\rightarrow$ 2:1)]를 실시하여 10개의 분획(LOE-6-2-1~6-2-10)으로 나누었고, 화합물 2 [LOE-6-2-4, 115 mg, Ve/Vt 0.040-0.056, TLC (ODS F<sub>254S</sub>), R<sub>f</sub> 0.65, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1)]를 분리하였다. LOE-6-2-2 [152 mg, Ve/Vt 0.017-0.022]분획에 대하여 Sephadex LH-20 c.c. [ $\phi$  3.0 $\times$ 55.0 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1 $\rightarrow$ 4:1)]를 실시하여 6개의 분획(LOE-6-2-2-1~LOE-6-2-2-6)으로 나누었고, 화합물 3 [LOE-6-2-2-3, 103 mg, Ve/Vt 0.516-0.561, TLC (ODS F<sub>254S</sub>), R<sub>f</sub> 0.66, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1)]을 분리하였다. LOE-7 [1.17 g, Ve/Vt 0.451-0.558]분획에 대하여 ODS c.c. [ $\phi$  4.0 $\times$ 6.0 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1)]를 실시하여 8개의 분획(LOE-7-1~7-8)으로 나누었고, 이 중 LOE-7-3 [117 mg, Ve/Vt 0.161-0.305]분획에 대하여 ODS c.c. [ $\phi$  3.0 $\times$ 3.5 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:2)]를 실시하여 10개의 분획(LOE-7-3-1~7-3-10)으로 나누었다. 이 중 LOE-7-3-5 [30 mg, Ve/Vt 0.150-0.279]분획에 대하여 Sephadex LH-20 c.c. [ $\phi$  2.0 $\times$ 37.0 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (7:1)]를 실시하여 8개의 분획(LOE-7-3-1~7-3-8)으로 나누었고, 화합물 4 [LOE-7-3-5-4, 21 mg, Ve/Vt 0.445-0.634, TLC (ODS F<sub>254S</sub>), R<sub>f</sub> 0.56, MeOH-H<sub>2</sub>O (2:1)]를 분리하였다.

***n*-BuOH 분획으로부터 화합물의 분리.** *n*-BuOH 분획 (11 g)에 대하여 SNAP Cartridge KP-Sil 100 g Biotage® CHCl<sub>3</sub>-MeOH (10:1 $\rightarrow$ 5:1 $\rightarrow$ 2:1)를 이용하여 Silica gel c.c.하여 11개의 분획물(LOB-1~LOB-11)을 얻었다. 이 중에서 LOB-3 [804 mg, Ve/Vt 0.204-0.351]분획에 대하여 Sephadex LH-20 c.c. [ $\phi$  3.0 $\times$ 53.0 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (1:1)]를 실시하여 7개의 분획(LOE-7-3-1~7-3-7)으로 나누었고, 그 중 LOB-3-2 [447 mg, Ve/Vt 0.096-0.193]분획에 대하여 ODS c.c. [ $\phi$  2.0 $\times$ 37.0 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (7:1)]를 실시하여 10개의 분획(LOB-3-2-1~3-2-10)으로 나누었다. LOB-3-2-5 [79 mg, Ve/Vt 0.191-0.366]분획에 대하여 ODS c.c. [ $\phi$  3.0 $\times$ 4.0 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O (2:3)]를 실시하여 8개의 분획(LOB-3-2-5-1~3-2-5-8)으로 나누었고, 화합물 5 [LOB-3-2-5-4, 40 mg, Ve/Vt 0.132-0.180, TLC (ODS F<sub>254S</sub>), R<sub>f</sub> 0.28, MeOH-H<sub>2</sub>O (2:3)]를 분리하였다.

화합물 1 (asarinin): white needles (MeOH); m.p. 118°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>28</sup> -116° (*c*=0.30, CHCl<sub>3</sub>); EI/MS *m/z* 354 [M]<sup>+</sup>; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 2900, 1490, 1440, 1370, 1260, 1180; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta$ <sub>H</sub>) 7.12 (2H, d, *J*=2.0 Hz, H-2,2'), 6.98 (2H, d, *J*=8.0 Hz, H-5,5'), 6.93 (2H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz, H-6,6'), 5.97 (2H, s, -OCH<sub>2</sub>O-), 5.96 (2H, s, -OCH<sub>2</sub>O-), 4.81 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-7), 4.56 (1H, d, *J*=6.8 Hz, H-7'), 4.16 (1H, br. d, *J*=9.2 Hz, H-9 $\beta$ ), 3.94 (1H, dd, *J*=8.8, 8.8 Hz, H-9 $\alpha$ ), 3.76 (1H, dd, *J*=9.2, 6.8 Hz, H-9' $\alpha$ ), 3.44 (1H, dd, *J*=8.8, 8.4 Hz, H-9 $\beta$ ), 3.28 (1H, m, H-8), 2.83 (1H, m, H-8'); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>,  $\delta$ <sub>C</sub>) 148.37 (C-3'), 148.06 (C-4), 147.50 (C-4'), 146.93 (C-3), 136.32 (C-1'), 133.29 (C-1), 119.92 (C-6'), 119.21 (C-6), 108.44 (C-5, 5'), 107.15 (C-2'), 107.17 (C-2), 101.60 (-OCH<sub>2</sub>O-), 101.53 (-OCH<sub>2</sub>O-), 87.89 (C-7'), 82.15 (C-7), 71.13 (C-9'), 69.93

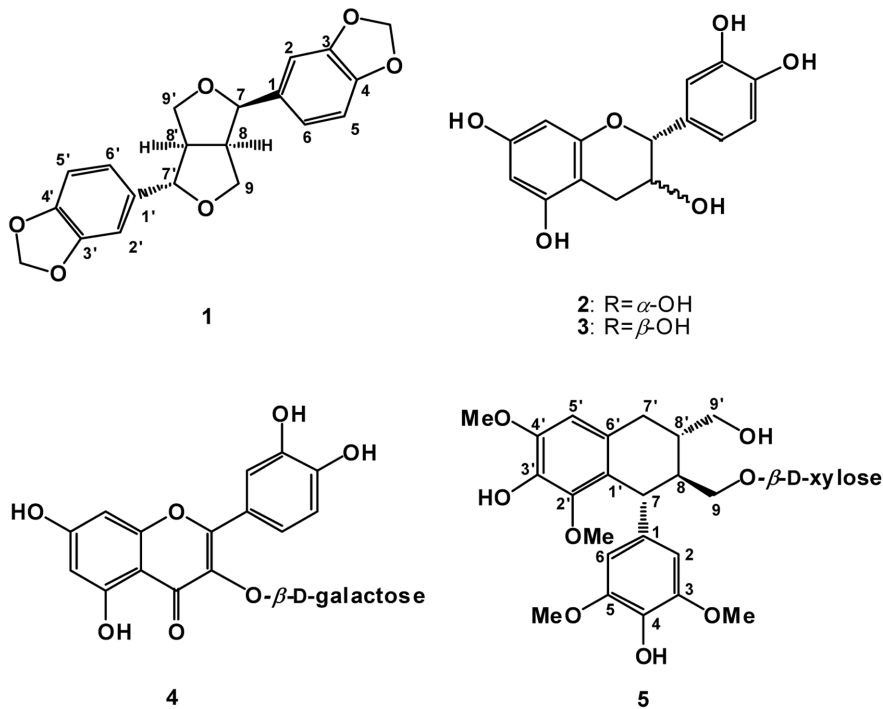


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-5 isolated from the stem wood of *L. obtusiloba* Blume.

(C-9), 55.31 (C-8'), 50.54 (C-8).

화합물 2 [(+)-catechin]: brownish powder (MeOH); m.p. 178-180°C;  $[\alpha]_D^{22} +14^\circ$  ( $c=0.08$ , acetone); EI/MS  $m/z$  290[M]<sup>+</sup>; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3836, 1694, 1558, 1345, 1165.

화합물 3 [(-)-epicatechin]: brownish powder (MeOH); m.p. 234-236°C;  $[\alpha]_D^{25} -50^\circ$  ( $c=1.07$ , MeOH); EI/MS  $m/z$  290[M]<sup>+</sup>; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3836, 1688, 1557, 1187.

화합물 4 (hyperin): yellow powder (MeOH); m.p. 235-238°C;  $[\alpha]_D^{25} -12^\circ$  ( $c=0.9$ , MeOH); negative FAB/MS  $m/z$  463 [M-H]<sup>-</sup>; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3316, 2900, 1655, 1607, 1060.

화합물 5 (nudiposide): colorless needles (MeOH); m.p. 169-172°C;  $[\alpha]_D^{22} -52^\circ$  ( $c=1.0$ , MeOH); EI/MS  $m/z$  552 [M]<sup>+</sup>; IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3360, 2900, 1610, 1500, 1310, 1215, 1110; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>H</sub>) 6.55 (1H, s, H-5'), 6.41 (1H, br, s, H-6), 6.39 (1H, br, s, H-2), 4.37 (1H, d,  $J=6.8$  Hz, H-7), 4.21 (1H, d,  $J=7.6$  Hz, H-1"), 3.85-3.77 (2H, overlapped, H-9b, 5"a), 3.83 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>), 3.73 (6H, s, 3,5-OCH<sub>3</sub>), 3.65 (1H, dd,  $J=10.8, 7.2$  Hz, H-9'a), 3.58 (1H, dd,  $J=10.8, 4.8$  Hz, H-9'b), 3.49 (1H, ddd,  $J=10.8, 8.8, 4.8$  Hz, H-4"), 3.42 (1H, dd,  $J=10.0, 4.0$  Hz, H-9a), 3.38 (1H, m, H-3"), 3.30 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.21 (1H, dd,  $J=8.8, 5.2$  Hz, H-2"), 3.15 (1H, dd,  $J=10.8, 4.8$  Hz, H-5"b), 2.72 (1H, dd,  $J=16.4, 12.4$  Hz, H-7'a), 2.65 (1H, dd,  $J=16.4, 4.0$  Hz, H-7'b), 2.03 (1H, m, H-8), 1.71 (1H, m, H-8'); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>C</sub>) 148.72 (C-3, 5), 148.42 (C-3'), 147.36 (C-2'), 139.50 (C-1), 138.68 (C-4'), 134.16 (C-4), 129.89 (C-1'), 126.26 (C-6'), 107.56 (C-5'), 106.63 (C-2, 6), 105.40 (C-1"), 77.94 (C-2"), 74.86 (C-3"),

71.17 (C-4"), 70.72 (C-9), 66.91 (C-5"), 65.87 (C-9), 59.88 (4'-OCH<sub>3</sub>), 56.75 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.71 (5-OCH<sub>3</sub>), 56.45 (2'-OCH<sub>3</sub>), 46.71 (C-8), 43.40 (C-7), 40.55 (C-8'), 33.97 (C-7').

## 결과 및 고찰

생강나무(*L. obtusiloba* Blume)로부터 이차대사산물을 분리 및 동정하기 위하여, 생강나무의 목부를 잘게 분쇄한 뒤, 80% MeOH로 추출하였고, 섞이지 않는 두 용매의 극성 차이를 이용하여 EtOAc, *n*-BuOH, H<sub>2</sub>O로 계통 분획하였다. EtOAc (7 g) 분획과 *n*-BuOH (11 g) 분획에 대하여 SiO<sub>2</sub>와 octadecyl silica gel, 그리고 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 수행하여 화합물 asarinin (1), (+)-catechin (2), (-)-epicatechin (3), hyperin (4) 및 nudiposide (5)을 분리, 정제하였다.

화합물 1은 백색 침상 결정으로 얻어졌다. TLC를 전개하고, 10% 황산을 분무 후 가열하면 푸른색으로 발색되었다. EI/MS에서  $m/z$  354 [M]<sup>+</sup>의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 354로 결정하였다. IR spectrum에서 이중결합(1490 cm<sup>-1</sup>)의 흡수밴드가 관측되었다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>, δ<sub>H</sub>)의 olefine 영역에서 δ 7.12 (2H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2,2') signal은 δ 6.93 (2H, dd,  $J=8.0, 2.0$  Hz, H-6,6') signal과 long range (<sup>4</sup>*J*) coupling 함을 확인하였고, H-6,6'은 δ 6.98 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5,5') signal과도 vicinal (<sup>3</sup>*J*) coupling을 확인하였다. 이로 미루어 1,2,4-3치환 benzene ring이 존재함을 확인하였다. 산소가 치환된 영역의 δ 5.97과 δ 5.96에서 2개의 dioxymethylene signal이 singlet으로 관측되었다. 또한, δ 4.81 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-7), δ 4.56 (1H, d,  $J=6.8$  Hz, H-7'), δ

3.28 (1H, t,  $J=9.2, 8.8$  Hz, H-8),  $\delta$  2.83 (1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-8')의 signal이 2개의 furofuran 구조에 나타나는 H-7, H-7'의 oxygenated-methine과 H-8, H-8'의 methine proton signal로 동정되었다.  $\delta$  4.16 (1H, br. d,  $J=9.2$  Hz, H-9 $\beta$ ),  $\delta$  3.94 (1H, dd,  $J=8.8, 8.8$  Hz, H-9 $\alpha$ ),  $\delta$  3.76 (1H, dd,  $J=9.2, 6.8$  Hz, H-9 $\alpha$ ),  $\delta$  3.44 (1H, dd,  $J=8.8, 8.4$  Hz, H-9 $\beta$ )은 2개의 oxygenated-methylene proton signal로 동정되었다. 함께의 주요한 lignan 화합물인 sesamin과 매우 유사한 위치에서 signal이 관측되었으나 furofuran 구조에서 유래한 signal이 다소 다르게 나타나서 sesamin과 같은 대칭구조가 아닌 이성질체로 추정하였다[Lee 등, 2002].  $^{13}\text{C-NMR}$  및 distortionless enhancement by polarization spectrum (100 MHz, pyridine- $d_5$ ,  $\delta_c$ )에서는 총 20개의 carbon signal과 다중도를 각각 확인하였다. 저자장 영역에서, 4개의 oxygenated-olefine quaternary carbon signal [ $\delta$  148.37 (C-3'), 148.06 (C-4), 147.50 (C-4'), 146.93 (C-3)] 및 2개의 olefine-quaternary carbon signal [ $\delta$  136.32 (C-1'), 133.29 (C-1)]이 관측되었고, 6개의 olefine-methine carbon signal [ $\delta$  119.92 (C-6'), 119.21 (C-6), 108.44 (C-5, 5'), 107.15 (C-2'), 107.17 (C-2)]이 관측되어 2개의 benzene ring이 존재함을 확인하였다. 산소 치환 영역에서 dioxymethylene signal 2개가  $\delta$  101.60 (-OCH<sub>2</sub>O-)와  $\delta$  101.53 (-OCH<sub>2</sub>O-)에서 관측 되었으며, 2개의 oxygenated-methine carbon signal이  $\delta$  87.89 (C-7')과  $\delta$  82.15 (C-7)에서, 2개의 oxygenated-methylene carbon signal  $\delta$  71.13 (C-9')과  $\delta$  69.93 (C-9)에서 각각 관측되었고, 고자장 영역에서 2개의 methine carbon signal이  $\delta$  55.31 (C-8')과  $\delta$  50.54 (C-8)에서 관측되었다. 따라서, sesamin과 같은 골격을 갖는 furofuran lignan 화합물로 확인되었다. Gradient correlation spectroscopy (gCOSY) spectrum으로부터  $\delta$  4.81 (H-7) signal과  $\delta$  3.28 (H-8)의 cross peak를 확인하였고, H-8은  $\delta$  3.44 (H-9 $\beta$ ) 및  $\delta$  2.83 (H-8')과, H-8'은  $\delta$  4.56 (H-7'),  $\delta$  4.16 (H-9 $\beta$ ) 및  $\delta$  3.94 (H-9 $\alpha$ )와의 cross peak가 관측되어, phenylpropanoid 두 분자가 대칭으로 결합함을 확인하였다. (-)-Sesamin의 경우에는 oxygenated-methine carbon signal인 C-7'과 C-7'이  $\delta$  85.7 (C-7,7')이나  $\delta$  85.99 (C-7,7')에서 관측 되었으나[Lee 등, 2002; Bang 등, 2007], compound 1은  $\delta$  87.89 (C-7')과  $\delta$  82.15 (C-7)와 같이 2.1 및 1.9 ppm 저자장으로 shift되어 관측되어 서로 간에 epimer인 것을 확인하였다. Gradient hetero-nuclear multiple bonding connectivity (gHMBC) spectrum으로부터 dioxymethylene proton signal [ $\delta$  5.97, 5.96]과 oxygenated-olefine quaternary carbon signal [ $\delta$  148.37 (C-3'), 148.06 (C-4), 147.50 (C-4'), 146.93 (C-3)]사이의 cross peak를 확인하여 dioxymethylene의 결합 위치를 확인하였다. 또한, oxygenated-methine proton signal [ $\delta$  4.81 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-7),  $\delta$  4.56 (1H, d,  $J=6.8$  Hz, H-7')]과 olefine-quaternary carbon signal [ $\delta$  136.29 (C-1), 133.32 (C-1')]사이의 cross peak를 확인하여 furofuran ring의 결합 위치를 확인하였다. 또한, compound 1은  $[\alpha]_D^{28}$  값이  $-116^\circ$ 로 나타났으며, (-)-sesamin은 문헌[Lee 등, 2002; Bang 등, 2007]에서 각각  $-87.2^\circ$ 와  $-59.2^\circ$ 로 나타났다. 위의 모든 결과를 종합하여 이 화합물을 asarinin으로 동정하였으며, 문헌[Ju 등, 2001; Lee

등, 2002]값과 비교하여 구조를 확인하였다(Fig. 1).

화합물 2는 갈색 분말로 얻어졌다. TLC를 전개하고, 10% 황산을 분무 후 가열하면 주황색으로 발색되었다. EI/MS에서  $m/z$  290 [M]<sup>+</sup>의 분자 이온 peak가 관측되어 분자량을 290으로 결정하였다. IR spectrum에서 수산기(3836 cm<sup>-1</sup>), 방향족고리(1694, 1558 cm<sup>-1</sup>)가 확인되어 부분구조를 예상할 수 있었다.  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data를 문헌과 비교 종합하여, 이 화합물을 flavanol 화합물인 (+)-catechin으로 구조 동정 하였다(Fig. 1) [Kim 등, 2005].

화합물 3은 갈색 분말로 얻어졌다. TLC를 전개하고, 10% 황산을 분무 후 가열하면 적갈색으로 발색되었다. EI/MS에서  $m/z$  290 [M]<sup>+</sup>의 분자 이온 peak가 관측되어 분자량을 290으로 결정하였다. IR spectrum에서 수산기(3836 cm<sup>-1</sup>), 방향족고리(1688, 1557 cm<sup>-1</sup>)가 확인되어 부분구조를 예상할 수 있었다.  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data를 문헌과 비교 종합하여, 이 화합물을 flavanol 화합물인 (-)-epicatechin으로 구조 동정 하였다(Fig. 1) [Kim 등, 2005].

화합물 4는 노란색 분말로 얻어졌다. TLC를 전개하고, 10% 황산을 분무 후 가열하면 노란색으로 발색되었다. Negative FAB/MS에서  $m/z$  463 [M-H]<sup>-</sup>의 분자 이온 peak가 관측되어 분자량을 464로 결정하였다. IR spectrum에서 수산기(3316 cm<sup>-1</sup>)와 이중결합(1655 cm<sup>-1</sup>)의 흡수밴드가 관측되었다.  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  data를 문헌과 비교 종합하여, 이 화합물을 quercetin의 3번 수산기에 D-galactopyranose가  $\beta$  결합한 hyperin으로 구조 동정 하였다(Fig. 1) [Lee 등, 2007].

화합물 5는 무색 침상 결정으로 얻어졌다. TLC를 전개하고, 10% 황산을 분무 후 가열하면 보라색으로 발색되었다. EI/MS에서  $m/z$  552[M]<sup>+</sup>의 분자 이온 peak가 관측되어 분자량을 552로 결정하였다. IR spectrum에서 수산기(3360 cm<sup>-1</sup>)와, 이중결합(1610 cm<sup>-1</sup>)의 흡수밴드가 관측되었다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $\delta_{\text{H}}$ )에서 olefine methine proton인  $\delta$  6.55 (1H, s, H-5') signal과 long range ( $^4J$ ) coupling하는  $\delta$  6.41 (1H, br.s, H-6)과 6.39 (1H, br.s, H-2) signal이 관측되어 다중 치환 benzene ring의 존재가 추정되었다. 산소가 치환된 영역에서 2개의 oxygenated-methylene proton signal [ $\delta$  3.65 (1H, dd,  $J=10.8, 7.2$  Hz, H-9'a), 3.58 (1H, dd,  $J=10.8, 4.8$  Hz, H-9'b), 3.42 (1H, dd,  $J=10.0, 4.0$  Hz, H-9'a)]이 관측되었고, 3개의 methine proton signal [ $\delta$  4.37 (1H, d,  $J=6.8$  Hz, H-7), 2.03 (H-8), 1.71 (H-8')]과 1개의 methylene proton signal이  $\delta$  2.72 (1H, dd,  $J=16.4, 12.4$  Hz, H-7'a)와  $\delta$  2.65 (1H, dd,  $J=16.4, 4.0$  Hz, H-7'b)에서 관측되었다. 당으로부터 유래되는 hemiacetal proton signal  $\delta$  4.21, 1H, d,  $J=7.6$  Hz, H-1" 및 oxygenated-methylene proton signal  $\delta$  3.83~3.77 (H-5"a, 9b), 3.15 (1H, dd,  $J=10.8, 4.8$  Hz, H-5"b)이 각각 중첩되어 관측되었고, oxygenated-methine proton signal [ $\delta$  3.49 (1H, ddd,  $J=10.8, 8.8, 4.8$  Hz, H-4"), 3.26 (1H, m, H-2"), 3.21 (1H, dd,  $J=8.8, 5.2$  Hz, H-3")]이 관측되어 오탄당의 존재가 확인되었다. 또한 methoxy proton signal [ $\delta$  3.83 (2'-OCH<sub>3</sub>), 3.73 (3,5-OCH<sub>3</sub>), 3.30 (4'-OCH<sub>3</sub>)]이 관측되었고, 적분 값으로부터 4개의 OCH<sub>3</sub>가 존재함을 알 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum (100

MHz, CD<sub>3</sub>OD, δ<sub>c</sub>) 에서 6개의 oxygenated-olefine quaternary carbon signal [δ 148.72 (C-3,5), 148.42 (C-3'), 147.36 (C-2'), 138.68 (C-4'), 134.16 (C-4)], 3개의 olefine-quaternary carbon signal [δ 139.50 (C-1), 129.89 (C-1'), 126.26 (C-6)], 3개의 olefine methine carbon signal [δ 107.56 (C-5'), 106.63 (C-2,6)]로부터 benzene ring이 2개 존재하는 것을 알 수 있었다. 또한, 산소 치환 영역에서 2개의 oxygenated-methylene carbon signal [δ 70.72 (C-9), 65.87 (C-9')]이 관측되었고, aliphatic 영역에서 3개의 methine carbon signal [δ 46.71 (C-8), 43.40 (C-7), 40.55 (C-8')] 및 1개의 methylene carbon signal [δ 33.97 (C-7')]이 관측되었다. 이를 통해 pyrane 구조를 갖는 lignan으로 확인하였다. H-7의 coupling constant가 크게 나타나고, H-8과 H-8'도 multiplet으로 signal이 중첩되어 나타나긴 했지만 coupling constant 값이 크게 나타났기 때문에 각각 trans 배향인 것으로 확인되었다. 화합물 5의 [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> 값이 -52°로 나타났는데 비하여 H-7이 α-배향을 하고 있는 lyoniside는 문헌에 [Inoshiri 등, 1987; Dada 등, 1989] 각각 [α]<sub>D</sub> +27° 및 28°로 나타나 compound 5의 H-7의 배향을 β-배향으로 결정하였다. 당으로부터 유래하는 signal인 δ 105.40 (C-1"), 77.94 (C-2"), 74.86 (C-3"), 71.17 (C-4"), 66.91 (C-5")의 chemical shift 값으로부터 결합된 당이 D-xylopyranose임을 알 수 있었으며 [Inoshiri 등, 1987], δ 4.21 (1H, d, J=7.6 Hz, H-1")에서 나타나는 anomeric proton signal의 coupling constant 값 (J=8.0 Hz)으로부터 당이 β-결합하고 있는 것을 확인하였다. 당의 결합 위치를 결정하기 위하여 gHMBC 실험을 실시하였다. Anomeric carbon signal인 δ 105.40 (C-1")이 oxygenated-methylene proton signal [δ 3.83~3.77 (H-9b)]과 cross peak를 보인 점으로부터 당의 위치를 결정하였으며, glycosidation shift에 의해 oxygenated-methylene carbon signal (δ 70.7, C-9)이 약 7 ppm 저자장으로 shift한 점으로부터도 이 사실을 확인하였다 [Atiar 등, 2007]. 이를 종합하여 화합물 5는 nudiposide로 구조 동정 하였다(Fig. 1).

(+)-Catechin (2), (-)-epicatechin (3) 및 hyperin (4)은 생강나무로부터 분리 보고된 바 있으나 [Kim NY 등, 2005; Lee 등, 2007], asarinin (1)과 nudiposide (5)는 이번에 생강나무에서 처음 분리 되었다. Asarinin은 멜라닌 생성 억제 활성 [Choi 등, 2007]이 보고되어 있으며, hyperin은 nitric oxide synthase의 억제제 [Luo 등, 2004], H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 세포손상예방 [Piao 등, 2008], 멜라닌 생성억제 [Arung 등, 2011]활성이 보고되어 있다.

## 초 록

생강나무 목부를 80% methanol로 추출, 농축하였으며, 얻어진 추출물을 ethyl acetate (EtOAc), butanol (*n*-BuOH) 및 H<sub>2</sub>O로 분배, 추출하였다. 이 중 EtOAc 분획과 *n*-BuOH 분획에 대하여 silica gel, octadecyl silica gel (ODS) 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 수행하여 2종의 lignan과 3종의 flavonoid 화합물을 분리하였다. 분리한 화합물의 구조는 NMR, MS 및 IR 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 asarinin (1), (+)-catechin (2), (-)-epicatechin (3), hyperin (4)

및 nudiposide (5)로 구조 동정 하였다. Asarinin (1)과 nudiposide (5)는 생강나무에서 이번에 처음으로 분리되었다.

**Key words:** asarinin, (+)-catechin, (-)-epicatechin, hyperin, nudiposide, 생강나무

## 감사의 글

본 연구는 2009년도 경희대학교 연구년 지원(KHU20081524)으로 수행된 연구로 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Arung ET, Furuta S, Ishikawa H, Kusuma IW, Shimizu K, and Kondo R (2011) Anti-melanogenesis properties of quercetin- and its derivative-rich extract from *Allium cepa*. *Food Chem* **124**, 1024-1028.
- Atiar Rahman MD, Katayama T, Suzuki T, and Nakagawa T (2007) Stereochemistry and biosynthesis of (+)-lyoniresinol, a syringyl tetrahydronaphthalene lignan in *Lyonia ovalifolia* var. *elliptica* I: isolation and stereochemistry of syringyl lignans and predicted precursors to (+)-lyoniresinol from wood. *J Wood Sci* **53**, 161-167.
- Bang CY, Won EK, Park KW, Lee GW, and Choung SY (2008) Antioxidant activities and whitening effect from *Lindera obtusiloba* BL. extract. *Yakhak Hoeji* **52**, 355-360.
- Bang MH, Song MCh, Han MW, Lee DY, Jo JK, Chung HG, Jeong TS, Lee KT, Choi MS, and Baek NI (2007) Development of biologically active compounds from edible plant sources-XIX. Isolation of inhibitory compound on LDL-Oxidation from the aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia princeps* PAMPANINI, Sajabalssuk). *J Korean Soc Appl Biol Chem* **50**, 224-227.
- Choi EH, Choi JY, Lee JG, OH JS, Kim DCh, Lee HS, Son JK, Ryang SA, Kim JA, and Lee SH (2007) Isolation of melanin biosynthesis inhibitory compounds from the roots of *Asarum sieboldii*. *Korean J Pharmacogn* **38**, 394-399.
- Dada G, Corbani A, Manitto P, Speranza G, and Lunazzi L (1989) Lignan glycosides from the heartwood of European oak *Quercus petraea*, *J Nat Prod* **52**, 1327-1330.
- Hong SC, Byun SH, and Kim SS (1987) In *Colored Illustrations of Trees & Shrubs in Korea*. p. 89, Kye Myeong Sa, Seoul, Korea.
- Inoshiri S, Sasaki M, Kohda H, Otsuka H, and Yamasaki K (1987) Aromatic glycosides from *Berchemia racemosa*. *Phytochemistry* **26**, 2811-2814.
- Ju Y, Still CC, Sacalis JN, Li JY, and Ho CT (2001) Cytotoxic coumarins and lignans from extracts of the northern prickly ash (*Zanthoxylum americanum*). *Phytother Res* **15**, 441-443.
- Kim NY, Park SJ, and Oh DH (2005) Antioxidant and lipid peroxidation inhibition effects of catechin compounds isolated from ethyl acetate fraction of grape seed ethanol extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **34**, 1498-1502.
- Kim SH, Son JH, and Lee SH (2009) Inhibitory effects of water extract of *Lindera obtusiloba* on the mast cell-mediated allergic inflammation. *Korean J Pharmacogn* **40**, 233-237.
- Kim TW (1996) In *the Woody Plants of Korea in Color*, p. 117, Kyo Hak Publishing Co., Seoul, Korea.

- Kwon DJ, Kim JK, and Bae YS (2007) Essential oils from leaves and twigs of *Lindera obtusiloba*. *J Korean For Soc* **96**, 65-69.
- Kwon HCh, Choi SU, Lee JO, Bae KH, Zee OP, and Lee KR (1999) Two new lignans from *Lindera obtusiloba* Blume. *Natural Products* **4**, 417-422.
- Lee DY, Lyu HN, Kwak HY, Jung LK, Lee YH, Kim DK, Chung IS, Kim SH, and Baek NI (2007) Isolation of flavonoids from the fruits of *Cornus kousa* Burg. *J Appl Biol Chem* **50**, 144-147.
- Lee JO, Oak MH, Jung SH, Park DH, Cyril Auger, Kim KR, Lee SW, and Valérie SK (2011) An ethanolic extract of *Lindera obtusiloba* stems causes NO-mediated endothelium-dependent relaxations in rat aortic rings and prevents angiotensin II-induced hypertension and endothelial dysfunction in rats. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* **383**, 635-645.
- Lee KY, Kim SH, Jeong EJ, Park JH, Kim SH, Kim YCh, and Sung SH (2010) New secoisolariciresinol derivatives from *Lindera obtusiloba* stems and their neuroprotective activities. *Planta Medica* **76**, 294-297.
- Lee SH, Kim BK, Cho SH, and Shin KH (2002) Phytochemical constituents from the fruits of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Arch Pharm Res* **25**, 280-284.
- Lee TchB (2003) In *Coloured Flora of Korea*, p. 403, Hyang Mun Sa, Seoul, Korea.
- Luo L, Sun Q, Mao YY, Lu YH, and Tan RX (2004) Inhibitory effects of flavonoids from *Hypericum perforatum* on nitric oxide synthase. *J Ethanopharmacol* **93**, 221-225.
- Park JCh, Yu YB, and Lee JH (1996) Isolation and structure elucidation of flavonoid glycosides from *Lindera obtusiloba* BL.. *J Korean Soc Food Nutr* **25**, 76-79.
- Piao MJ, Kang KA, Zhang R, Ko DO, Wang ZH, You HJ, Kim HS, Kim JS, Kang SS, and Hyun JW (2008) Hyperoside prevents oxidative damage induced by hydrogen peroxide in lung fibroblast cells via an antioxidant effect. *Biochem Biophys Acta* **178**, 1448-1457.
- Seo KH, Baek MY, Lee DY, Shrestha S, Kang HCh, Rho YD, and Baek NI (2010) Isolation of secondary metabolites from *Lindera obtusiloba* Blume. *Research Collection of Institute of Life Sciences & Resources* **29**, 24-28.