

# 산겨릅나무 목질부에서 분리한 페놀성 화합물의 DPPH 라디칼 소거활성\*1

권 동 주\*2,3 · 김 진 규\*4 · 배 영 수\*2†

## DPPH Radical Scavenging Activity of Phenolic Compounds Isolated from the Stem Wood of *Acer tegmentosum*\*1

Dong-Joo Kwon\*2,3 · Jin-Kyu Kim\*4 · Young-Soo Bae\*2†

### 요 약

현재까지 산겨릅나무의 식물화학적 연구는 수피부에 국한되어 있으며, 목질부의 성분연구는 전혀 보고된 것이 없다. 본 연구는 산겨릅나무 목질부로부터 2개의 flavan 3-ol, 3개의 phenolic acid/alcohol 및 2개의 coumarin 화합물을 컬럼크로마토그래피를 연속적으로 실시하여 분리하였다. 화합물의 구조는 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR 및 MS 스펙트럼을 분석하여, (+)-catechin (1), (-)-epicatechin (2), *p*-hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4), *p*-tyrosol (5), scopoletin (6) 및 cleomiscosin A (7)으로 동정하였으며, 그 중 *p*-hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4), scopoletin (6) 및 cleomiscosin A (7)는 산겨릅나무에서는 처음 분리하였다. 화합물의 DPPH 라디칼 소거활성 측정 결과 (+)-catechin (1)과 (-)-epicatechin (2)은 양성 대조구로 사용한 BHA보다 우수한 항산화 활성을 나타냈다.

### ABSTRACT

There have been few reports on the constituents and biological activity of stem bark of *Acer tegmentosum*, and no phytochemical and biological studies have been reported for stem wood of *A. tegmentosum*. Two flavan 3-ols (1 and 2), three phenolic acid/alcohols (3~5), and two coumarins

\*1 접수 2010년 12월 6일, 채택 2011년 1월 12일

\*2 강원대학교 산림바이오소재공학과. Department of Forest Biomaterials Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*3 한림대학교 바이오메디컬학과. Department of Biomedical Science, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea.

\*4 한림대학교 천연의학연구소. Institute of Natural Medicine, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea.

† 교신저자(corresponding author) : 배영수(e-mail: bae@kangwon.ac.kr)

(6 and 7) were isolated from the stem wood of *A. tegmentosum* by repeated column chromatography. The structure of isolated compounds were identified as (+)-catechin (1), (-)-epicatechin (2), *p*-hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4), *p*-tyrosol (5), scopoletin (6), and cleomiscosin A (7) on the basis of spectroscopic evidences such as  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 2D-NMR and MS spectrum. *p*-Hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4), scopoletin (6), and cleomiscosin A (7) have not been reported from this plant so far. (+)-Catechin (1) and (-)-epicatechin (2) showed the higher 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity than butylated hydroxyanisole (BHA) used as a positive control.

**Keywords:** *Acer tegmentosum*, stem wood, phenolic compounds, DPPH

## 1. 서 론

산겨릅나무(*Acer tegmentosum* Max.)는 우리나라의 지리산 천왕봉 일대, 중부이북의 고산지대와 만주, 아무르와 우수리강 유역의 일부 산지에만 분포하고 있는 낙엽소교목으로 산저릅나무, 참겨릅나무, 봉목이라고도 부르며 민간에서는 산청목, 벌나무로 잘 알려져 있는 수종이다. 산겨릅나무의 효능을 민간에서는 잎과 잔가지, 수피를 지방간, 간염, 간경병증, 간암에 뚜렷한 치료 작용이 있으며, 특히 간에 쌓인 독을 풀고 간세포를 살리는 효능이 있고, 이노작용이 탁월해 부종이나 신장염에도 치료효과가 있다고 알려져 있다[1,2].

산겨릅나무의 성분 및 생리활성에 대한 연구로는 Shin[3] 등(2006)이 수피 추출물이 간암, 위암, 폐암 등의 암세포 성장 억제 효과를 보고하였으며, Park[4] 등(2006)은 수피로부터 flavonoid, quinone 및 coumarin 등 10개의 다양한 페놀성 화합물을 분리하여 암세포주에 대한 세포독성을 보고한 바 있다. 또한, Hur[5,6] 등(2006, 2007)은 isoprenoid와 phenolic glycoside 등의 화합물을 수피에서 분리하였고, Kwon [7] 등(2007)은 수피에서 6'-*O*-galloylsalidroside를 비롯한 5개의 페놀성 화합물을 보고하였으며 Tung[8] 등(2008)은 flavonoid와 phenylethyl glycoside 등의 15개의 화합물을 수피에서 분리하여 보고하였다. 산겨릅나무에 대한 식물화학적 연구는 수피부에 집중되어 있으며, 현재까지 목질부에 대한 연구는 보고된 것이 없다.

따라서 본 연구는 민간에서 간질환, 항암, 숙취해소 등에 널리 이용되고 있는 산겨릅나무의 수피와 목질부 중 식물화학적 연구가 수행된 적이 없는 목질부를 대상으로 칼럼크로마토그래피와 NMR 등의 분광학적 기기분석을 이용하여 7개의 페놀성 화합물의 구조를 동정하였으며, 분리 화합물의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하여 천연 항산화제로서의 이용 가능성을 알아보하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료

산겨릅나무는 2007년 10월 인제군 방태산에서 벌채하여 목질부를 채취하였으며 목재파쇄기를 이용하여 파쇄한 후 실험실에서 2주 이상 기건시킨 후 분쇄기로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

### 2.2. 시약 및 기기

화합물의 구조를 규명하기 위한 NMR기기는 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker Avance DPX 400과 600 MHz spectrometer (Germany)를 사용하여  $^1\text{H-NMR}$  (400, 600 MHz),  $^{13}\text{C-NMR}$  (100, 125 MHz)을 측정하였으며, 분석용매로는  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  및  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ 를 사용하였다. 분자량은 질량분석기 (Micromass Autospec M363, UK)를 이용하여 EI-MS는 ion source 250°C, electron energy 70 eV 조건에



Table 1. <sup>1</sup>H (400 MHz) and <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) chemical shifts ( $\delta$ , ppm) of compounds **1** and **2**

Position	<sup>1</sup> H [mult., <i>J</i> (Hz)]		<sup>13</sup> C	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
2	457 ( <i>d</i> , 7.5)	480 ( <i>br s</i> )	82.88	78.87
3	3.98 ( <i>m</i> )	4.16 ( <i>m</i> )	68.84	66.49
4	2.51 ( <i>dd</i> , 8.2, 16.1) 2.85 ( <i>dd</i> , 5.4, 16.1)	2.73 ( <i>dd</i> , 2.8, 16.8) 2.86 ( <i>dd</i> , 4.5, 16.8)	28.55	28.28
5	-	-	157.61	156.65
6	5.86 ( <i>d</i> , 2.3)	5.92 ( <i>d</i> , 2.3)	96.32	95.44
7	-	-	157.86	157.00
8	5.93 ( <i>d</i> , 2.3)	5.94 ( <i>d</i> , 2.3)	95.53	94.94
9	-	-	156.95	156.38
10	-	-	100.85	99.12
1'	-	-	132.24	131.30
2'	6.97 ( <i>d</i> , 1.9)	6.97 ( <i>d</i> , 1.8)	115.28	114.34
3'	-	-	146.26	144.77
4'	-	-	146.28	144.94
5'	6.76 ( <i>d</i> , 8.1)	6.75 ( <i>d</i> , 8.1)	116.12	114.94
6'	6.75 ( <i>dd</i> , 1.9, 8.1)	6.79 ( <i>dd</i> , 1.8, 8.1)	120.08	118.45

<sup>a</sup> Recorded in CD<sub>3</sub>OD.

### 2.3. 추출물의 조제 및 분획

분쇄한 산겨릅나무 목질부 3.8 kg을 acetone-H<sub>2</sub>O (7 : 3, v/v) 혼합용액에 침지하여 약 3일간, 총 3회 반복 추출하였으며, 추출액은 감압농축기를 이용하여 40°C 이하에서 농축하였다. 농축한 추출용액은 분획깔때기상에서 헥산(*n*-hexane), 디클로로메탄(dichloromethane), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 및 수용성으로 순차 분획하였으며, 각각의 분획물은 동결 건조하여 조추출물 16.6 g, 에틸아세테이트용성 7.5 g, 수용성 53.9 g 및 고형분 69.7 g을 얻었으며 본 실험에서는 에틸아세테이트용성 6.0 g을 사용하였다.

### 2.4. 화합물의 분리

Fig. 1과 같이 산겨릅나무 목질부 에틸아세테이트 용성 분획 6.0 g을 MeOH-H<sub>2</sub>O (3 : 1, v/v)을 용리용

매로 사용해 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하여 3개의 fraction으로 분리하였다. Fraction 1과 2를 MeOH-H<sub>2</sub>O (1 : 5, 1 : 1, v/v)로 C-18과 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하여 각각 5개(Fr. 11~15)와 4개(Fr. 21~24)의 fraction으로 분리하였으며, Fraction 11을 Sephadex LH-20과 silica gel 컬럼크로마토그래피를 반복적으로 실시하여 화합물 **3** (13 mg), **4** (17 mg), **5** (250 mg)을 분리하였다. Fraction 12를 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (50 : 1 → 1 : 10, v/v) 혼합용액으로 silica gel 컬럼크로마토그래피를 실시한 후 preparative TLC (CHCl<sub>3</sub>-MeOH (10 : 1, v/v))로 정제하여 화합물 **5** (30 mg), **6** (10 mg)을 분리하였으며, Fraction 14를 EtOAc-hexane (10 : 1 → 15 : 1, v/v)로 silica gel 컬럼크로마토그래피를 실시하여 흰색 결정성 화합물 **7** (18 mg)을 분리하였다. Fraction 22는 MeOH-H<sub>2</sub>O (1 : 1, 1 : 5, v/v) 혼합용액으로 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 반복수행하여 화합물 **1** (270 mg), **2** (36

Table 2.  $^1\text{H}$  (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz) chemical shifts ( $\delta$ , ppm) of compounds 3-5

Position	$^1\text{H}$ [mult., $J$ (Hz)]			$^{13}\text{C}$		
	3 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>c</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>c</sup>
1	-	-	-	126.80	132.96	130.01
2	7.62 ( <i>d</i> , 8.6)	6.57 ( <i>s</i> )	7.03 ( <i>d</i> , 8.5)	131.57	104.34	129.89
3	7.02 ( <i>d</i> , 8.6)	-	6.70 ( <i>d</i> , 8.5)	116.90	148.14	115.13
4	-	-	-	161.36	134.47	155.75
5	7.02 ( <i>d</i> , 8.6)	-	6.70 ( <i>d</i> , 8.5)	116.90	148.14	115.13
6	7.62 ( <i>d</i> , 8.6)	6.57 ( <i>s</i> )	7.03 ( <i>d</i> , 8.5)	131.57	104.34	129.89
7	9.65 ( <i>s</i> )	4.38 ( <i>s</i> )	2.71 ( <i>t</i> , 7.2)	193.90	63.53	38.41
8	-	-	3.68 ( <i>t</i> , 7.2)	-	-	63.60
3-OCH <sub>3</sub>	-	3.73 ( <i>s</i> )	-	-	56.21	-
5-OCH <sub>3</sub>	-	3.73 ( <i>s</i> )	-	-	56.21	-

<sup>a</sup> Recorded in (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, <sup>b</sup> Recorded in (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, <sup>c</sup> Recorded in CD<sub>3</sub>OD.

mg)을 분리하였다.

#### 2.4.1. 화합물 1 ((+)-Catechin)

$R_f$ : 0.53 (TBA), 0.33 (6% HOAc). EI-MS  $m/z$ : 290 [M]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR: Table 1.

#### 2.4.2. 화합물 2 ((-)-Epicatechin)

$R_f$ : 0.37 (TBA), 0.31 (6% HOAc). EI-MS  $m/z$ : 290 [M]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR: Table 1.

#### 2.4.3. 화합물 3 (*p*-hydroxybenzaldehyde)

$R_f$ : 0.80 (TBA), 0.35 (6% HOAc). EI-MS  $m/z$ : 122 [M]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR: Table 2.

#### 2.4.4. 화합물 4 (Syringic alcohol)

$R_f$ : 0.86 (TBA), 0.56 (6% HOAc). EI-MS  $m/z$ : 184 [M]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR: Table 2.

#### 2.4.5. 화합물 5 (*p*-tyrosol)

$R_f$ : 0.76 (TBA), 0.71 (6% HOAc). EI-MS  $m/z$ : 138 [M]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR: Table 2.

#### 2.4.6. 화합물 6 (Scopoletin)

$R_f$ : 0.67 (TBA), 0.38 (6% HOAc). EI-MS  $m/z$ : 192 [M]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz): Table 3.

#### 2.4.7. 화합물 7 (Cleomiscosin A)

$R_f$ : 0.83 (TBA), 0.71 (6% HOAc). FAB-MS  $m/z$ : 387 [M+H]<sup>+</sup>.  $^1\text{H}$  (600 MHz) and  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz): Table 3.

### 2.5. DPPH 라디칼 소거활성에 의한 항산화활성

산겨릅나무 목질부 추출물, 분획물 및 분리 화합물을 농도별로 MeOH에 희석한 용액 100  $\mu\text{l}$ 와 0.15 mM DPPH (Sigma, USA) 용액 100  $\mu\text{l}$ 을 96-well plate에 혼합하여 실온에서 빛을 차단하고 30분간 반응시킨 후 microplate reader (Tecan, Italy)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control은 BHT, BHA 및  $\alpha$ -tocopherol을 사용하였다. 항산화 효능은 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 라디칼 소거능(IC<sub>50</sub>)을 3회 반복 측정하여 나타내었다.

Table 3. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR chemical shifts ( $\delta$ , ppm) of compounds **6** and **7**

Position	<sup>1</sup> H [mult, <i>J</i> (Hz)]		<sup>13</sup> C	
	6 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>b</sup>
2	-	-	164.15	160.00
3	6.20 ( <i>d</i> , 9.4)	6.35 ( <i>d</i> , 9.5)	112.47	113.18
4	7.89 ( <i>d</i> , 9.4)	7.97 ( <i>d</i> , 9.5)	146.20	144.80
5	7.11 ( <i>s</i> )	6.92 ( <i>s</i> )	109.88	100.81
6	-	-	147.21	145.26
7	-	-	153.27	137.07
8	6.76 ( <i>s</i> )	-	104.00	131.65
9	-	-	151.52	138.02
10	-	-	112.47	111.22
1'	-	-	-	126.67
2'	-	7.06 ( <i>s</i> )	-	112.04
3'	-	-	-	147.61
4'	-	-	-	147.25
5'	-	6.83 ( <i>d</i> , 8.0)	-	115.37
6'	-	6.88 ( <i>d</i> , 8.0)	-	120.78
7'	-	4.99 ( <i>d</i> , 7.9)	-	76.22
8'	-	4.33 ( <i>m</i> )	-	77.81
9'	-	3.67 ( <i>d</i> , 12.2)	-	59.83
6-OCH <sub>3</sub>	3.90 ( <i>s</i> )	3.78 ( <i>s</i> )	56.91	55.83
3'-OCH <sub>3</sub>	-	3.79 ( <i>s</i> )	-	55.73

<sup>a</sup> Recorded in CD<sub>3</sub>OD; <sup>b</sup> Recorded in (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO.

### 3. 결과 및 고찰

산겨릅나무 목질부를 70% acetone 추출한 후 용매의 극성에 따라 분획을 실시하여 동결 건조하였다. 그 중 EtOAc 분획에 대한 Sephadex LH-20, silica gel 및 C-18 column chromatography를 반복적으로 실시하여 7개의 페놀성 화합물을 분리하고 NMR을 이용하여 그 구조를 규명(Fig. 2)하고 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다.

#### 3.1. (+)-Catechin (1)과 (-)-epicatechin (2)

화합물 **1**과 **2**는 flavan 3-ol 화합물의 대표적인 화합물로 heterocyclic ring의 입체구조가 다른 isomer 화합물이다. 화합물 **1**은 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 het-

erocyclic ring (H-2, 3, 4)의 특징적인 signal이  $\delta$  2.51,  $\delta$  2.85,  $\delta$  3.98,  $\delta$  4.57에서 나타나며 화합물 **2**는  $\delta$  2.73,  $\delta$  2.86,  $\delta$  4.16,  $\delta$  4.80에서 signal이 나타나는 차이를 보인다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 C-2, 3, 4의 signal은 화합물 **1**의 경우  $\delta$  82.88,  $\delta$  68.84,  $\delta$  28.55에서 나타나는 반면 화합물 **2**는  $\delta$  78.87,  $\delta$  66.49,  $\delta$  28.28에서 나타난다. 이상의 결과로 화합물 **1**과 **2**는 (+)-catechin[9]과 (-)-epicatechin[10]으로 구조를 결정하였다.

#### 3.2. *p*-Hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4) 및 *p*-tyrosol (5)

화합물 **3**, **4**, **5**는 단순 페놀성 화합물로 1% FeCl<sub>3</sub> 발색제에서 모두 청색으로 반응하였다. 화합물 **3**의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 phenol ring의 수소들이 겹쳐

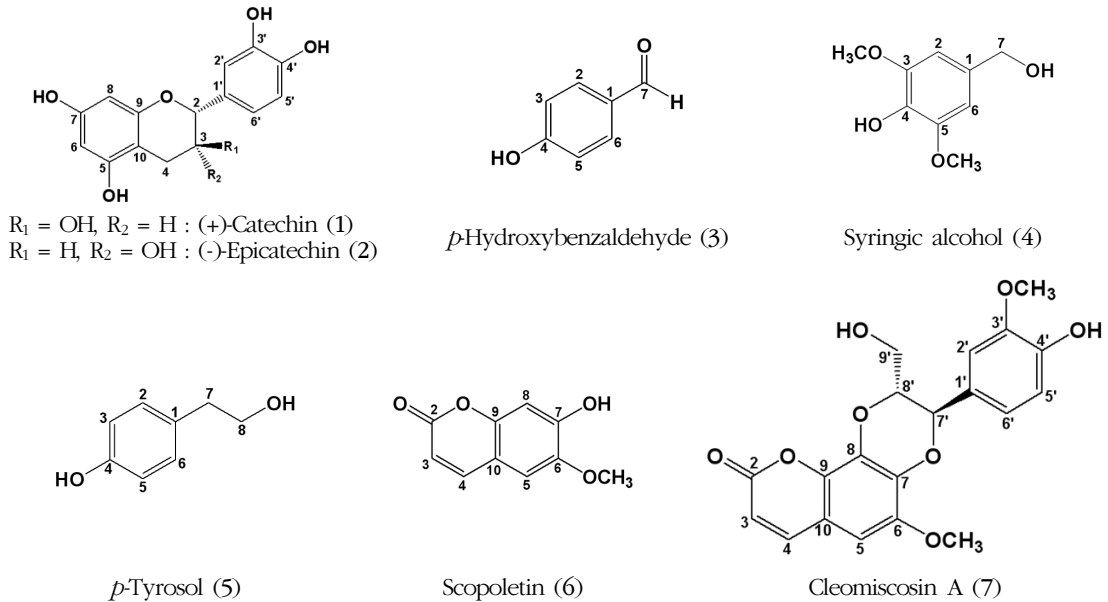


Fig. 2. Chemical structure of compounds 1~7 isolated from *A. tegmentosum* stem wood.

서  $\delta$  7.02 (H-2, 6)와  $\delta$  7.62 (H-3, 5)에서 나타나며, aldehyde 수소가 downfield되어  $\delta$  9.65에서 특징적인 나타난다.  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼에서 phenol ring의 대칭 탄소들이  $\delta$  116.90 (C-3, 5)와  $\delta$  131.57 (C-2, 6), aldehyde 탄소가  $\delta$  193.90에서 나타나는 것으로 보아 *p*-hydroxybenzaldehyde[11]로 구조를 결정하였다.

화합물 4의  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼에서 두 개의 methoxyl group 수소들이  $\delta$  3.73에서 겹쳐서 signal이 나타나며, methylene 수소들이  $\delta$  4.38 (H-7)에서 signal이 관찰되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼에서 phenol ring에 methoxyl group이 결합하고 있는 탄소가  $\delta$  148.14 (C-3, 5), methine 탄소가  $\delta$  104.34 (C-2, 6)에서 signal이 나타난다. Methylene 탄소와 methoxyl group 탄소는  $\delta$  63.53과  $\delta$  56.21에서 signal이 관찰되는 것으로 보아 syringic alcohol[12]로 구조를 결정하였다.

화합물 5의  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼에서 methylene 수소들은  $\delta$  2.71 (H-7)과  $\delta$  3.68 (H-8)에서 triplet signal로 나타나며, phenol ring의 수소들은 서로 대칭으로  $\delta$  7.03 (H-2, 6)과  $\delta$  6.70 (H-3, 5)에서 signal

로 나타난다.  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼에서 서로 대칭인 C-2, 6과 C-3, 5는 서로 겹쳐서 하나의 signal로  $\delta$  115.13과  $\delta$  129.89에서 나타나며, methylene 탄소인 C-7은  $\delta$  38.41, C-8은  $\delta$  63.60에서 signal이 관찰된다. 이상의 결과로 화합물 5는 *p*-tyrosol[13]로 구조를 결정하였다.

### 3.3. Scopoletin (6)과 cleomiscosin A (7)

화합물 6과 7은 coumarin 화합물로 백색 무정형 분말로 분리되었으며 1%  $\text{FeCl}_3$  발색제에서 청색으로 반응하였다. 화합물 6의  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼에서 두 개의 olefinic 수소가  $\delta$  6.20 (H-3)과  $\delta$  7.82 (H-4)에서 signal이 나타나며  $J$ 값이 9.4 Hz인 것으로 보아 coumarin 화합물임을 알 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼에서 carbonyl 탄소가  $\delta$  164.15 (C-2), olefinic 탄소들이  $\delta$  112.47 (C-3)과  $\delta$  146.20 (C-4)에서 signal 나타나며, methoxyl group 탄소 signal이  $\delta$  56.91에서 관찰되었다. 이상의 결과로 화합물 6은 scopoletin[14]으로 구조를 결정하였다.

화합물 7의  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼에서 coumarin의

Table 4. DPPH radical scavenging activities and IC<sub>50</sub> values of the isolated compounds from *A. tegmentosum* stem wood

Samples	DPPH radical scavenging activity (%)					IC <sub>50</sub> <sup>1</sup> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	20 $\mu\text{g}/\text{ml}$	40 $\mu\text{g}/\text{ml}$	80 $\mu\text{g}/\text{ml}$		
Positive Controls	BHT	222	36.7	58.0	79.0	90.6	17.25 $\pm$ 0.29
	BHA	56.8	79.8	91.7	94.6	94.9	4.44 $\pm$ 0.10
	$\alpha$ -tocopherol	19.6	34.4	61.9	94.2	94.3	16.64 $\pm$ 0.88
Compounds	(+)-catechin (1)	61.6	93.7	94.8	94.9	94.7	4.09 $\pm$ 0.23
	(-)-epicatechin (2)	67.2	94.3	94.3	94.5	94.4	3.73 $\pm$ 0.17
	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde (3)	4.0	9.1	15.0	29.8	49.4	186.70 $\pm$ 4.58
	syringic alcohol (4)	16.9	29.6	52.8	79.9	92.8	19.97 $\pm$ 4.58
	<i>p</i> -tyrosol (5)	3.1	3.5	4.0	6.4	11.3	479.76 $\pm$ 5.69
	scopoletin (6)	14.9	31.4	49.4	60.3	68.9	21.60 $\pm$ 1.50
	cleomiscosin A (7)	9.6	15.8	26.9	46.7	81.4	47.43 $\pm$ 2.90

<sup>1</sup> The concentration in  $\mu\text{g}/\text{ml}$  required for 50% reduction of DPPH radical.

olefinic 수소가  $\delta$  6.35 (H-3)와  $\delta$  7.97 (H-4)에서 signal이 나타나며, ABX spin system 수소들의 signal이  $\delta$  7.06 (H-2'),  $\delta$  6.83 (H-5') 및  $\delta$  6.88 (H-6')에서 특징적으로 나타난다. Aliphatic oxymethine 수소들은  $\delta$  4.99 (H-7')과  $\delta$  4.33 (H-8')에서 signal이 관찰되는데 H-7'의 *J*값이 7.9 Hz인 것으로 보아 *trans* 구조임을 알 수 있었다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 20개의 signal이 나타났으며, DEPT 스펙트럼으로 methine 탄소 8개, methylene 탄소 1개, quaternary 탄소 9개 및 methoxyl 탄소 1개가 존재함을 알 수 있었다. Lignan moiety의 탄소들은  $\delta$  76.22 (C-7'),  $\delta$  77.81 (C-8') 및  $\delta$  59.83 (C-9')에서 signal 특징적으로 나타난다. HMBC (heteronuclear multiple-bond correlation) 스펙트럼에서 methoxyl group 수소들은 각각 C-6 ( $\delta$  145.26), C-3' ( $\delta$  147.61)과 cross peak가 관찰되었으며 H-7' ( $\delta$  4.99)은 C-1 ( $\delta$  126.67), C-2 ( $\delta$  112.04) 및 C-6' ( $\delta$  120.78)과 cross peak가 나타내는 것으로 보아 C-7'에 3'-methoxyl-4-hydrophenyl moiety가 결합하고 있음을 알 수 있었다. 또한 positive FAB-MS 스펙트럼에서 분자 ion peak는 *m/z* 387 [M+H]<sup>+</sup>로 화합물 7의 분자량 386과 일치하였다. 이상의 결과로 화합물 7은 coumarinolignan 화합물인 cleomiscosin A[15,16]로 구조를

결정하였다.

### 3.4. DPPH 라디칼 소거활성

산겨릅나무 목질부에서 분리한 7개의 페놀성 화합물에 대하여 DPPH를 이용한 항산화 활성을 측정한 결과 (Table 4) flavan 3-ol 형태의 (+)-catechin (1)과 (-)-epicatechin (2)의 IC<sub>50</sub> 값은 4.09와 3.73  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 양성대조구인 BHA (IC<sub>50</sub> = 4.44  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )보다 우수한 항산화 활성을 나타내었다. Syringic alcohol (4) (IC<sub>50</sub> = 19.97  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )과 scopoletin (6) (IC<sub>50</sub> = 21.60  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )도 활성을 보였으나 양성대조구보다 약한 활성을 나타냈으며 기타 화합물들은 항산화 활성이 미미한 것으로 나타났다.

## 4. 결론

산겨릅나무 목질부를 70% acetone 용액으로 추출하여 용매의 극성에 따라 분획하였다. 분획물 중 에틸아세테이트 분획에 대한 Sephadex LH-20, C-18 등의 column chromatography를 실시하여 7개의 페놀성 화합물을 분리하였다. 화합물의 구조는 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, 2D-NMR 및 MS 스펙트럼을 분석하여,



(+)-catechin (1), (-)-epicatechin (2), *p*-hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4), *p*-tyrosol (5), scopoletin (6) 및 cleomiscosin A (7)로 구조를 결정하였다. 이 중 *p*-hydroxybenzaldehyde (3), syringic alcohol (4), scopoletin (6) 및 cleomiscosin A (7)은 산겨릅나무에서 처음 분리되어 보고하는 것이며, (+)-catechin (1)과 (-)-epicatechin (2)가 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었다.

## 사 사

깨끗한 NMR 스펙트럼을 얻을 수 있도록 도움을 주신 강원대학교 공동실험실습관 핵자기공명실의 유지속 박사님께 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. 김태욱. 1996. 한국의 수목. 교학사. pp. 476.
2. 조재명 외 12명. 2003. 원색 약용 · 식용 수목도설. 유성사. pp. 163.
3. Shin, I. C., J. H. Sa, T. H. Shim, and J. H. Lee. 2006. The physical and chemical properties and cytotoxic effects of *Acer tegmentosum* Maxim. Extracts. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49(4): 322~327.
4. Park, K. M., M. C. Yang, K. H. Lee, S. U. Choi, and K. R. Lee. 2006. Cytotoxic phenolic constituents of *Acer tegmentosum* Maxim. Arch. Pharm. Res. 29(12): 1086~1090.
5. Hur, J. M., E. J. Yang, S. H. Choi, and K. S. Song. 2006. Isolation of phenolic glucosides from the stems of *Acer tegmentosum* Max. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49(2): 149~152.
6. Hur, J. M., M. Jun, E. J. Yang, S. H. Choi, J. C. Park, and K. S. Song. 2007. Isolation of isoprenoidal compounds from the stem of *Acer tegmentosum* Max. Kor. J. Pharmacogn. 38(1): 67~70.
7. Kwon, D. J. and Y. S. Bae. 2007. Phenolic Compounds from *Acer tegmentosum* Bark. J. Korean Wood Sci. and Tech. 35(6): 145~151.
8. Tung, N. H., Y. Ding, S. K. Kim, K. H. Bae, and Y. H. Kim. 2008. Total Peroxyl Radical-Scavenging Capacity of the Chemical Components from the Stems of *Acer tegmentosum* Maxim. J. Agric. Food Chem. 56(22): 10510~10514.
9. Agrawal, P. K. 1989. Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier. pp. 437~445.
10. Harbone, J. B. and T. J. Mabry. 1982. The flavonoids advance in research, Chapman and Hall Ltd. pp. 421~426.
11. Pyo, M. K., Y. K. Koo, and H. S. Yun-Choi. 2002. Anti-platelet effect of the phenolic constituents isolated from the leaves of *Magnolia obovata*. Nat. Prod. Sci. 8(4): 147~151.
12. Gutierrez, A. B. and W. Herz. 1988. Bisabolones and other constituents of *Mikania shubunensis*. Phytochemistry 27(12): 3871~3874.
13. Takaya, Y., T. Furukawa, S. Miura, T. Akutagawa, Y. Hotta, N. Ishikawa, and M. Niwa. 2007. Antioxidant constituents in distillation residue of Awamori spirits. J. Agric. Food Chem. 55(1): 75~79.
14. Saleem, M., J. K. Hyoung, C. Jin, and S. L. Yong. 2004. Antioxidant caffeic acid derivatives from leaves of *Parthenocissus tricuspidata*. Arch. Pharm. Res. 27(3): 300~304.
15. Ray, A. B., S. K. Chattopadhyay, C. Konno, Y. Kiso, and H. Hikino. 1985. Structures of cleomiscosins, coumarinolignoids of *Cleome viscosa* seeds. Tetrahedron 41(1): 209~214.
16. Kumar, S., A. B. Ray, C. Konno, Y. Oshima, and H. Hikino. 1988. Cleomiscosin D, a coumarino-lignan from seeds of *Cleome viscosa*. Phytochemistry 27(2): 636~638.