

사철나무(*Euonymus japonica*) 목부의 추출성분

김우진 · 이정태 · 이학주* · 조성택

국립산림과학원 화학미생물과

Extractives from Wood of *Euonymus japonica*

Woo-Jin Kim, Kyoung-Tae Lee, Hak-Ju Lee* and Sung-Taig Cho

Division Wood Chemistry and Microbiology Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

요 약: 사철나무 목부의 메탄올(MeOH) 조추출물로부터 10종의 화합물을 Column chromatography를 이용하여 분리하였으며 기기분석 결과, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, vanillic acid, 2, 4-dimethoxyphenol-1-glucoside, 2, 4, 6-trimethoxyphenol-glucoside, 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3, 4-dicaffeoylquinic acid, 3, 5-dicaffeoylquinic acid, 1, 5-dicaffeoylquinic acid으로 각각 동정하였다.

Abstract: From the bark of *Euonymus japonica*, ten compounds were isolated by column chromatography and identified as follows. The structures were determined as : (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, vanillic acid, 2,4-dimethoxyphenol-1-glucoside, 2, 4, 6-trimethoxyphenol-glucoside, 5-caffeoylquinic acid, 4-caffeoylquinic acid, 3, 4-dicaffeoylquinic acid, 3, 5-dicaffeoylquinic acid, and 1, 5-dicaffeoylquinic acid.

Keywords: *Euonymus japonica*, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, vanillic acid, caffeoylquinic acid, dicaffeoylquinic acid

서 론

사철나무(*Euonymus japonica*)는 노박덩굴과에 속하는 상록관목으로 겨울살이나무·동청목이라고도 한다. 흔히 관상용이나 산울타리용으로 심으며, 내한성은 약하지만 해풍과 염기에 강하며, 습도가 있는 비옥한 곳에서 잘 자라지만, 햇볕이 부족한 음지나 나무그늘 밑에서도 양호한 성장을 한다. 한국, 일본, 중국 등지에 분포한다. 또한 껍질을 벗겨 말린 것을 한방에서는 왜두충이라 하여 이뇨·강장약으로 사용하고 있으나 두충의 약효와는 전혀 다르다(Lee, 1982).

Euojaponine은 사철나무 근피에서 분리된 알칼로이드 성분으로(Han et al., 1990; 1990), 일반적으로 노박덩굴과에서 발견되므로 celastraceae 알칼로이드라고도 하고 구조적인 특징을 고려하여 polyester형 알칼로이드 또는 sesquiterpene pyridine 알칼로이드 등으로 불리운다(Smith, 1977). Kupchan 등이 ansa macrolide계 알칼로이드인 maytansine을 분리하여 항암효과를 가지고 있다고 보고하였고(Kupchan, 1972), Beroza 등은 sesquiterpene cyclodiester

계열 알칼로이드를 분리하여 살충효과를 가진 것을 보고하였다(Beroza, 1951).

현재 euojaponine과 동일계열의 알칼로이드 성분들은 살충 및 해충에 대한 식용억제활성에 관하여 많은 연구가 진행 중이다(Gonzalez et al., 1993). 사철나무의 알칼로이드 성분에 관한 연구는 많이 되어있지만, 그 외의 성분들에 대한 생리활성물질에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 국내에 자생하는 사철나무 목부의 추출성분을 분리하였으며, 분리 화합물에 대해서는 NMR, MS등의 기기분석에 의해 화합물들의 구조를 명확히 하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에 사용된 공시수종은 경남 하동군 화계면 정금리 산 10번지에서 채취하여 사용하였다.

2. 추출 및 용매분획

수피를 박피하여 목부를 음건시킨 후, 분쇄기로 분말화하였으며, 그 분말시료를 메탄올(methanol, MeOH)에 72

*Corresponding author
E-mail: leehj99@forest.go.kr

시간 동안 실온에서 침지시켜 조추출물을 얻었으며, 이 조작을 3회 실시하였다. 여기서 얻어진 메탄올 조추출물은 노르말 헥산(*n*-hexane), 디클로로메탄(dichloromethane, CH₂Cl₂), 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc) 및 부탄올(butanol, BuOH) 등의 용매를 사용하여 순차연속추출하여 분획하였다.

3. 기기분석

단리한 화합물의 질량(MS) 스펙트럼은 JEOL JMS-600W를 사용하였고, ¹H-, ¹³C-NMR, HMQC (¹H Detected Multiple Quantum Coherence), HMBC (¹H Detected Multiple Bond Connectivity) 등의 핵자기공명(nuclear magnetic resonance : NMR) 스펙트럼은 서울대 농생명과학공동기기원의 AVANCE 600(Bruker, germany)을 사용하여 측정하였다.

4. 각 성분의 단리

1) Compound 1

사철나무 목부의 EtOAc 가용부(59.85 g)에 대해 충전제 sephadex LH 20 column을 이용하여 acetone을 용출용매로 100 mL 씩 40개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 이들 분취물들은 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 5개의 분획물(EJE-1~5)로 나누었다. 이중 EJE-2의 분획물(215.2 mg)에 대해 충전제 sephadex LH 20 column을 이용하여 MeOH을 용출용매로 5.0 g 씩 30개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 3개의 분획물(EJE-2-1~2-3)로 나누었다. 이중 EJE-2-2의 분획물(102.5 mg)에 대해 충전제 sephadex LH 20 column을 이용하여 EtOH을 용출용매로 5.0 g 씩 40개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 3개의 분획물(EJE-2-2-1~2-2-3)로 나누었다. 이중 EJE-2-2-2로부터 compound 1 (21.0 mg)을 단리하였다.

EI-MS *m/z*:290 (M⁺). ¹H-NMR (600 MHz, MeOH-*d*₄) : δ 2.72 (1H, *dd*, *J*=2.8, 16.7 Hz, H-4), 2.85 (1H, *dd*, *J*=4.6, 16.7 Hz, H-4), 4.16 (1H, broad *s*, H-3), 4.80 (1H, *s*, H-2), 5.90 (1H, *d*, *J*=2.2 Hz, H-8), 5.93 (1H, *d*, *J*=2.2 Hz, H-6), 6.74 (1H, *d*, *J*=8.1 Hz, H-5'), 6.78 (1H, *dd*, *J*=1.8, 8.1 Hz, H-6'), 6.96 (1H, *d*, *J*=1.8 Hz, H-2'). ¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-*d*₄): δ 29.39 (*t*, C-4), 67.64 (*d*, C-3), 80.03 (*d*, C-2), 96.08 (*d*, C-8), 96.60 (*d*, C-6), 100.26 (*s*, C-10), 115.49 (*d*, C-2'), 116.07 (*d*, C-5'), 119.57 (*d*, C-6'), 132.45 (*s*, C-1'), 145.93 (*s*, C-4'), 146.09 (*s*, C-3'), 157.52 (*s*, C-9), 157.82 (*s*, C-7), 158.13 (*s*, C-5).

2) Compound 2

목부의 EtOAc 가용부의 EJE-3 분획물(435.7 mg)에 대해 충전제 sephadex LH 20 column을 이용하여 MeOH을

용출용매로 5.0 g 씩 40개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 3개의 분획물(EJE-3-1~3-3)로 나누었다. 이중 EJE-3-2의 분획물(315.2 mg)에 대해 충전제 sephadex LH 20 column을 이용하여 EtOH을 용출용매로 5.0 g 씩 40개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 3개의 분획물(EJE-3-2-1~3-2-3)로 나누었다. 이중 EJE-3-2-2로부터 compound 2 (200.0 mg)을 단리하였다.

EI-MS *m/z*:306 (M⁺). ¹H-NMR (600 MHz, MeOH-*d*₄) : δ 2.72 (1H, *dd*, *J*=2.9, 16.7 Hz, H-4), 2.83 (1H, *dd*, *J*=4.6, 16.7 Hz, H-4), 4.16 (1H, broad *s*, H-3), 4.74 (1H, *s*, H-2), 5.90 (1H, *d*, *J*=2.3 Hz, H-6), 5.92 (1H, *d*, *J*=2.2 Hz, H-8), 6.50 (2H, *s*, H-2', 6'). ¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-*d*₄) : δ 29.27 (*t*, C-4), 67.66 (*d*, C-3), 80.04 (*d*, C-2), 96.06 (*d*, C-8), 96.58 (*d*, C-6), 100.28 (*s*, C-10), 107.18 (*d*, C-2', 6'), 131.69 (*s*, C-1'), 133.76 (*s*, C-4'), 146.84 (*s*, C-3', 5'), 157.45 (*s*, C-9), 157.82 (*s*, C-7), 158.11 (*s*, C-5).

3) Compound 3

목부의 EtOAc 가용부의 EJE-1 분획물(5.1 g)에 대해 충전제 silica gel column을 이용하여 benzene:MeOH (10:1, v/v)을 용출용매로 100 mL 씩 56개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 5개의 분획물 (EJE-1-1~1-5)로 나누었다. 이중 EJE-1-1의 분획물(1.4 g)에 대해 충전제 C18 column을 이용하여 40% MeOH을 용출용매로 250 mL 씩 5개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 5개의 분획물 (EJE-1-1-1~1-1-5)로 나누었다. 이중 EJE-1-1-2의 분획물(50.37 mg)에 대해 충전제를 sephadex LH 20 column을 이용하여 MeOH을 용출용매로 3.0 g 씩 30개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 3개의 분획물(EJE-1-1-2-1~1-1-2-3)로 나누었다. 이중 EJE-1-1-2-2의 분획물(14.3 mg)에 대해 충전제 sephadex LH 20 column을 이용하여 acetone을 용출용매로 1.5 g 씩 50개의 분취물을 순차적으로 얻었으며, 3개의 분획물 (EJE-1-1-2-2-1~1-1-2-2-3)로 나누었다. 이중 EJE-1-1-2-2-2로부터 compound 3 (4.0 mg)을 단리하였다.

EI-MS *m/z*:168 (M⁺). ¹H-NMR (600 MHz, MeOH-*d*₄) : δ 3.88 (3H, *s*, -OCH₃), 6.82 (1H, *d*, *J*=8.7 Hz, H-5), 7.53 (1H, *dd*, *J*=1.8, 7.3 Hz, H-2), 7.55 (1H, *d*, *J*=1.9 Hz, H-6). ¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-*d*₄):δ 56.58 (*s*, -OCH₃), 114.04 (*d*, C-2), 115.98 (*d*, C-5), 123.40 (*s*, C-1), 125.41 (*d*, C-6), 148.82 (*d*, C-4), 152.79 (*d*, C-3), 170.27 (*s*, C=O).

4) Compound 4

Butanol 가용부 35 g을 농축하고 70% methanol을 이용하여 용해시킨 다음 불용성 침전물을 filter paper를 이용

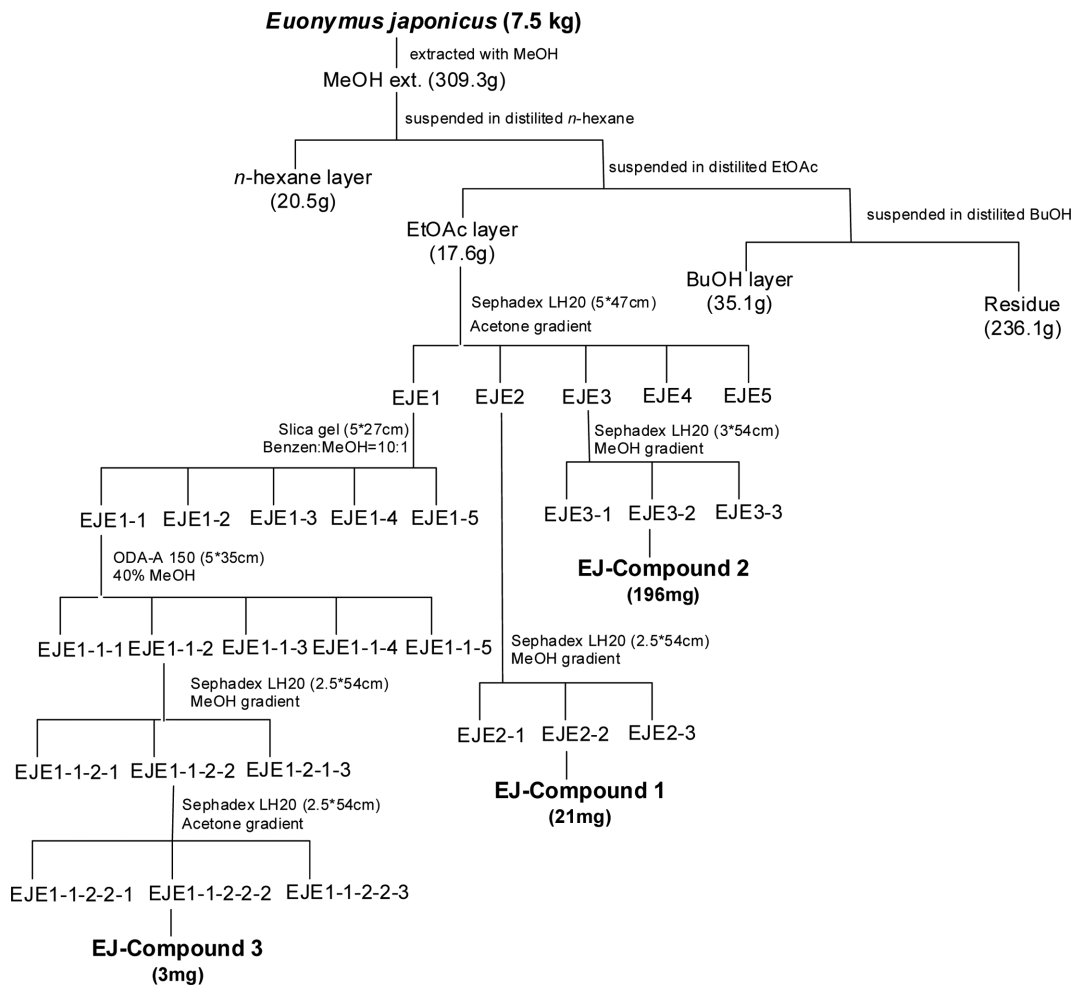


Figure 1. Isolation procedures of the compounds from EtOAc layer for the wood of *E. japonica*.

하여 제거한 다음 물에 용해시켜 Diaion HP-20 resin을 이용하여 흡착시킨 후 3배수의 증류수로 세척하여 당질을 제거하고 98% ethanol을 용출용매로 용출하여 분획물(EJB)을 얻었다. EJB의 분획물(25.0 g)를 30% acetonitrile을 용출용매로 한 ODS-A(VMC gel, 60 μm) column을 이용하여 30% acetonitrile을 분리용매로 800 drop 씩 분취하여 200개의 분취물을 얻었으며, 6개의 분획물(EJB-1~6)로 나누었다. 이중 EJB-2의 분획물(100.0 mg)을 5% acetonitrile을 용출용매로 한 Lichroprep RP-18 (Merck, 40-63 μm) column을 이용하여 300 drop씩 분취하여 150개의 분취물을 얻었으며, 7개의 분획물(EJB-2-1~2-7)로 나누었다. 이중 EJB-2-2로부터 compound 4 (15.0 mg)을 분리하였다.

ESI-MS m/z :317 (M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) : δ 3.12 (1H, *m*, H-5'), 3.19 (1H, *m*, H-4'), 3.24 (1H, *m*, H-3'), 3.28 (1H, *m*, H-2'), 3.35 (1H, *m*, H-6'b), 3.44 (1H, *m*, H-6'a), 3.68 (-OCH₃), 3.72 (-OCH₃), 4.59 (1H *t*, $J=5.6, 11.3$ Hz, H-5'), 4.72 (1H, *d*, $J=7.6$ Hz, H-1'), 6.55 (1H, *dd*, $J=2.7, 8.7$ Hz, H-5), 6.70 (1H, *d*, $J=2.7$ Hz, H-3), 6.83 (1H, *d*, $J=8.8$ Hz, H-6). ^{13}C -NMR

(150 MHz, DMSO- d_6) : δ 55.3 (-OCH₃), 56.1 (-OCH₃), 60.8 (*t*, C-6), 69.9 (*d*, C-4'), 73.2 (*d*, C-2'), 76.7 (*d*, C-3'), 77.1(*d*, C-5'), 101.4 (*d*, C-1'), 102.3 (*d*, C-3), 107.1 (*d*, C-5), 112.6 (*d*, C-6), 143.8 (*s*, C-4), 149.3 (*s*, C-2), 151.96 (*s*, C-1).

5) Compound 5

EJB-2의 분획물(100.0 mg)을 5% acetonitrile을 용출용매로 한 Lichroprep RP-18(Merck, 40-63 μm) column을 이용하여 300 drop씩 분취하여 150개의 분취물을 얻었으며, 7개의 분획물(EJB-2-1~2-7)로 나누었다. 이중 EJB-2-4로부터 compound 5 (7.0 mg)을 분리하였다.

ESI-MS m/z :347 (M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) : δ 3.12 (1H, *m*, H-5'), 3.19 (1H, *m*, H-4'), 3.24 (1H, *m*, H-3'), 3.28 (1H, *m*, H-2'), 3.35 (1H, *m*, H-6'b), 3.44 (1H, *m*, H-6'a), 3.68 (-OCH₃ × 2), 3.72 (-OCH₃), 4.59 (1H *t*, $J=5.6, 11.3$ Hz, H-5'), 4.77 (1H, *d*, $J=7.68$ Hz, H-1'), 6.37 (2H, *s*, H-3, 5). ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) : δ 55.7 (-OCH₃ × 2), 60.6 (-OCH₃), 61.1 (*t*, C-6'), 69.9

(*d*, C-4'), 73.3 (*d*, C-2'), 77.2 (*d*, C-3'), 77.6(*d*, C-5'), 94.4 (*d*, C-3, 5), 101.1 (*d*, C-1'), 132.4 (*s*, C-4), 152.9 (*s*, C-6), 153.0 (*s*, C-2), 153.96 (*s*, C-1).

6) Compound 6

EJB-3의 분획물(450.0 mg)을 10% acetonitrile을 용출용매로 한 Lichroprep RP-18 (Merck, 40-63 μ m) column을 이용하여 500 drop씩 분취하여 200개의 분취물을 얻었으며, 4개의 분획물(EJB-3-1~3-4)로 나누었다. 이 중 EJB-3-2로부터 Biotage KP-C18-HS (USA, 35-70 μ m) column을 이용하여 5% acetonitrile을 분리용매로 300 drop씩 분취하여 Compound 6 (3.0 mg)을 단리하였다.

ESI-MS *m/z*:355(M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.77~2.03 (4H, *m*, H-2, 6), 3.42 (1H, *brs*, H-4), 3.92 (1H, *brs*, H-3), 5.06 (1H, *m*, H-5), 6.15 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-8'), 6.76 (1H, *d*, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.98 (1H, *dd*, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 7.03 (1H, *s*, H-2'), 7.42 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-7'). ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6): δ 36.2 (*t*, C-2), 37.2 (*t*, C-6), 68.0 (*d*, C-3), 70.3 (*d*, C-5), 70.9 (*d*, C-4), 73.5 (*s*, C-1), 114.3 (*d*, C-2'), 114.8 (*d*, C-8'), 115.8 (*d*, C-5'), 121.4 (*d*, C-6'), 125.6 (*s*, C-1'), 145.0 (*d*, C-7'), 145.6 (*s*, C-3'), 148.4 (*s*, C-4'), 165.8 (*s*, C-9'), 175.0 (-COOH).

7) Compound 7

EJB-3-3로부터 Biotage KP-C18-HS (USA, 35-70 μ m) column을 이용하여 10% acetonitrile을 분리용매로 300 drop씩 분취하여 Compound 7 (5.0 mg)을 단리하였다.

ESI-MS *m/z* : 355(M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.87~2.09 (4H, *m*, H-2, 6), 4.09 (1H, *brs*, H-5), 4.67 (1H, *dd*, J = 8.0, 5.0 Hz, H-3), 4.87 (1H, *d*, J = 5.0 Hz, H-4), 6.27 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-8'), 6.76 (1H, *d*, J = 8.0 Hz, H-5'), 7.00 (1H, *dd*, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 7.04 (1H, *d*, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.49 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-7'), 9.15 (1H, *s*, 3'-OH), 9.57 (1H, *s*, 4'-OH). ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6): δ 37.8 (*t*, C-2), 40.7 (*t*, C-6), 64.0 (*d*, C-5), 66.4 (*d*, C-3), 74.0 (*s*, C-1), 76.9 (*d*, C-4), 114.6 (*d*, C-2'), 114.7 (*d*, C-8'), 115.8 (*d*, C-5'), 121.2 (*d*, C-6'), 125.6 (*s*, C-1'), 144.8 (*d*, C-7'), 145.6 (*s*, C-3'), 148.3 (*s*, C-4'), 166.3 (*s*, C-9'), 175.4 (-COOH).

8) Compound 8

EJB-3-3로부터 Biotage KP-C18-HS (USA, 35-70 μ m) column을 이용하여 10% acetonitrile을 분리용매로 300 drop씩 분취하여 Compound 8 (8.0 mg)을 단리하였다.

ESI-MS *m/z* : 517(M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO-

d_6): δ 2.11~2.36 (4H, *m*, H-2, 6), 4.17 (1H, *m*, H-5), 4.87 (1H, *m*, H-4), 5.45 (1H, *m*, H-3), 6.29 (2H, *t*, J = 16.3 Hz, H-8', 8''), 6.77 (2H, *d*, J = 8.2 Hz, H-5', 5''), 6.93 (2H, *dd*, J = 1.9, 8.2 Hz, H-6', 6''), 7.03 (2H, *d*, J = 1.9 Hz, H-2', 2''), 7.58 (2H, *t*, J = 15.4 Hz, H-7', 7''). ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6): δ 35.63 (*t*, C-6), 40.57 (*t*, C-2), 64.37(*d*, C-5), 68.72 (*d*, C-3), 73.79 (*s*, C-1), 75.29 (*d*, C-4), 113.49 (*d*, C-8', 8''), 113.82 (*d*, C-2', 2''), 115.06 (*d*, C-5', 5''), 121.82 (*d*, C-6', 6''), 126.36 (*s*, C-1', 1''), 145.41 (*s*, C-3', 3''), 145.97 (*d*, C-7', 7''), 148.22 (*s*, C-4', 4''), 167.20 (*s*, C-9', 9''), 176.62 (-COOH).

9) Compound 9

EJB-4의 분획물(270.0 mg)을 20% acetonitrile을 용출용매로 한 Lichroprep RP-18 column을 이용하여 500 drop씩 분취하여 200개의 분취물을 얻었으며, 4개의 분획물(EJB-4-1~4-4)로 나누었다. 이 중 EJB-4-3로부터 Biotage KP-C18-HS (USA, 35-70 μ m) column을 이용하여 15% acetonitrile을 분리용매로 300 drop씩 분취하여 compound 6 (12.0 mg)을 단리하였다.

ESI-MS *m/z* : 517 (M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 2.23~2.34 (4H, *m*, H-2, 6), 3.99 (1H, *m*, H-4), 5.23 (1H, *m*, H-3), 5.28 (1H, *m*, H-5), 6.29 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-8'), 6.37 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-8''), 6.79 (2H, *d*, J = 8.3 Hz, H-5', 5''), 6.99 (2H, *dd*, J = 2.3, 8.3 Hz, H-6', 6''), 7.07 (2H, *d*, J = 2.3 Hz, H-2', 2''), 7.56 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-7''), 7.60 (1H, *d*, J = 16.0 Hz, H-7'). ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6): δ 34.62 (*t*, C-6), 36.29 (*t*, C-2), 69.27 (*d*, C-4), 70.68 (*d*, C-3), 71.15 (*d*, C-5), 73.34 (*s*, C-1), 113.68 (*d*, C-8''), 113.80 (*d*, C-2', 2''), 114.17 (*d*, C-8'), 115.05 (*d*, C-5', 5''), 121.66 (*d*, C-6', 6''), 126.50 (*s*, C-1', 1''), 145.38 (*s*, C-3', 3''), 145.63 (*d*, C-7''), 145.86 (*d*, C-7'), 148.20 (*s*, C-4', 4''), 166.95 (*s*, C-9''), 167.47 (*s*, C-9'), 176.09 (-COOH).

10) Compound 10

EJB-5의 분획물(50.0 mg)을 20% acetonitrile에서 25% acetonitrile을 분리용매로 기울기 용리를 하고 Lichroprep RP-18 (Merck, 40-63 μ m) column을 이용하여 300 drop씩 분취하여 200개의 분취물을 얻었으며, 이들 분취물을 TLC에 전개시킨 후, UV 램프로 검색하여 compound 10 (4 mg)을 단리하였다.

ESI-MS *m/z*:517 (M^+). 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 2.12~2.28 (4H, *m*, H-2, 6), 3.62 (1H, *m*, H-4), 4.17 (1H, *m*, H-3), 5.28 (1H, *m*, H-5), 6.19 (1H, *d*, J = 15.9 Hz, H-8'), 6.21 (1H, *d*, J = 15.9 Hz, H-8''), 6.76 (2H,

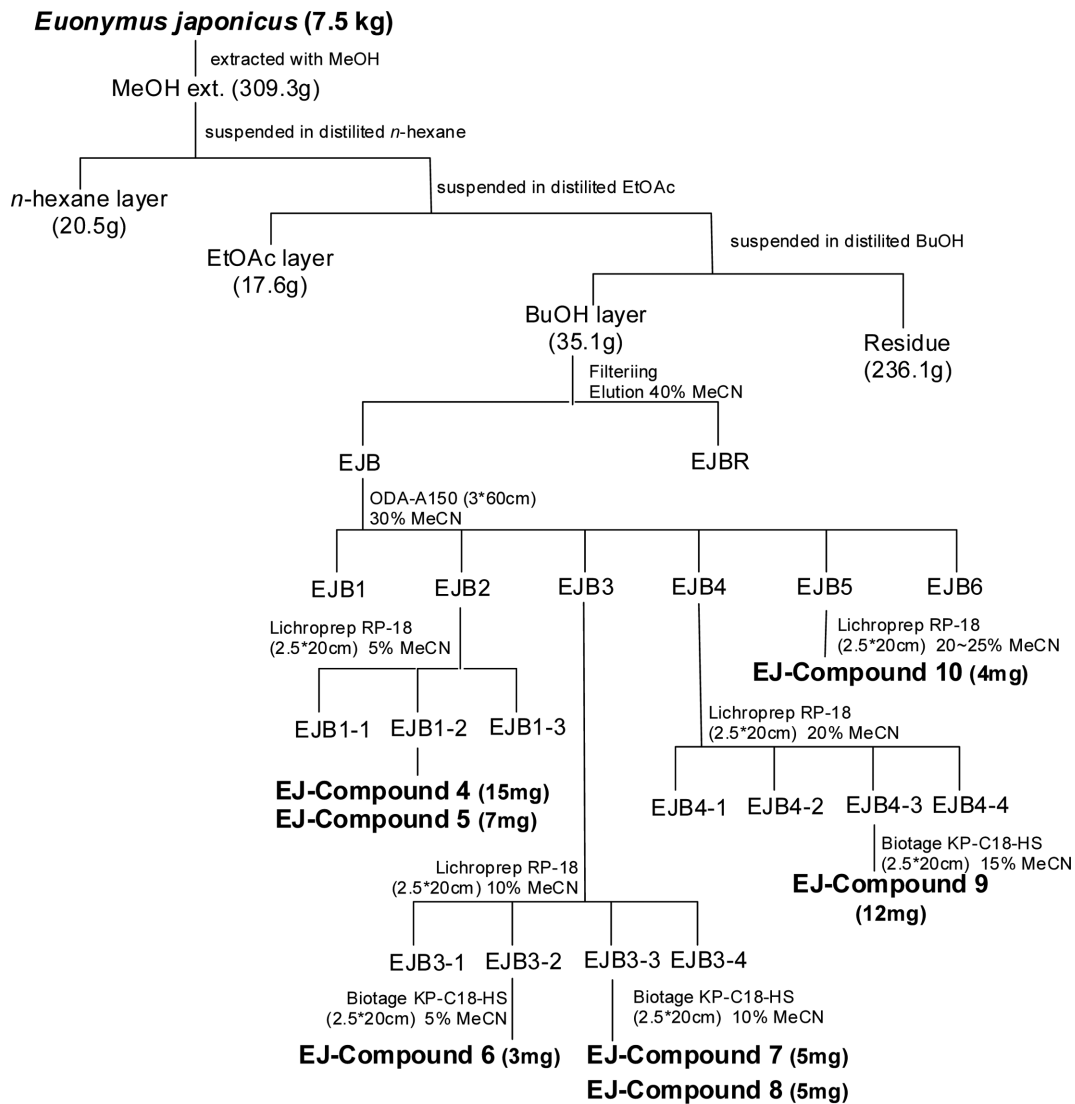


Figure 2. Isolation procedures of the compounds from BuOH layer for the wood of *E. japonica*.

d, $J=8.3$ Hz, H-6', 6"), 6.99 (2H, *dd*, $J=2.3, 8.3$ Hz, H-5', 5"), 7.06 (2H, *d*, $J=2.3$ Hz, H-2', 2"), 7.46 (1H, *d*, $J=16.0$ Hz, H-7"), 7.49 (1H, *d*, $J=16.0$ Hz, H-7). $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 37.02 (*t*, C-2), 37.94 (*t*, C-6), 67.59 (*d*, C-5), 67.94 (*d*, C-3), 74.31 (*s*, C-1), 74.36 (*d*, C-4), 113.26 (*d*, C-8"), 113.32 (*d*, C-8'), 113.74 (*d*, C-2', 2"), 115.05 (*d*, C-5', 5"), 121.74 (*d*, C-6', 6"), 126.28 (*s*, C-1', 1"), 145.36 (*s*, C-3', 3"), 146.17 (*d*, C-7"), 146.92 (*d*, C-7'), 148.27 (*s*, C-4', 4"), 166.80 (*s*, C-9"), 167.13 (*s*, C-9'), 175.45 (-COOH).

결과 및 고찰

1. 단리화합물의 화학구조

1) Compound 1

Compound 1은 EI-MS에서 분자량이 $m/z : 288$ (M^+)를

나타냈다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum 분석을 행한 결과, proton 2종의 signal이 5.90~5.93 ppm에서 나타났으며, 두 개의 doublet signal은 coupling constant J 값이 2.2 Hz로 서로 *meta* coupling 하고 있는 H-8과 H-6의 peak로 이것은 phloroglucinol A환의 전형적인 signal을 보이고 있다. 6.96 ppm에서는 H-2' signal의 coupling constant J 값이 1.8 Hz로 서로 *meta* coupling 하고 있음을 나타냈고, 6.74 ppm에서는 H-5' signal의 coupling constant J 값이 8.1 Hz로 서로 *ortho* coupling 하고 있고, 6.78 ppm에서는 H-6' signal의 coupling constant J 값이 1.8, 8.1 Hz로 서로 *ortho* 및 *meta* coupling 하고 있어 compound 1이 catechol B환 형태를 가지고 있음을 보여주고 있다. 그리고 H-2와 H-3은 (+)-catechin과 달리 약간씩 upfield 되어 각각 4.80 ppm과 4.16 ppm에서 broad singlet signal을 나타내고 있는데, 이것은 H-2와 H-3이 *cis* 형태임을 나타내고 있다.

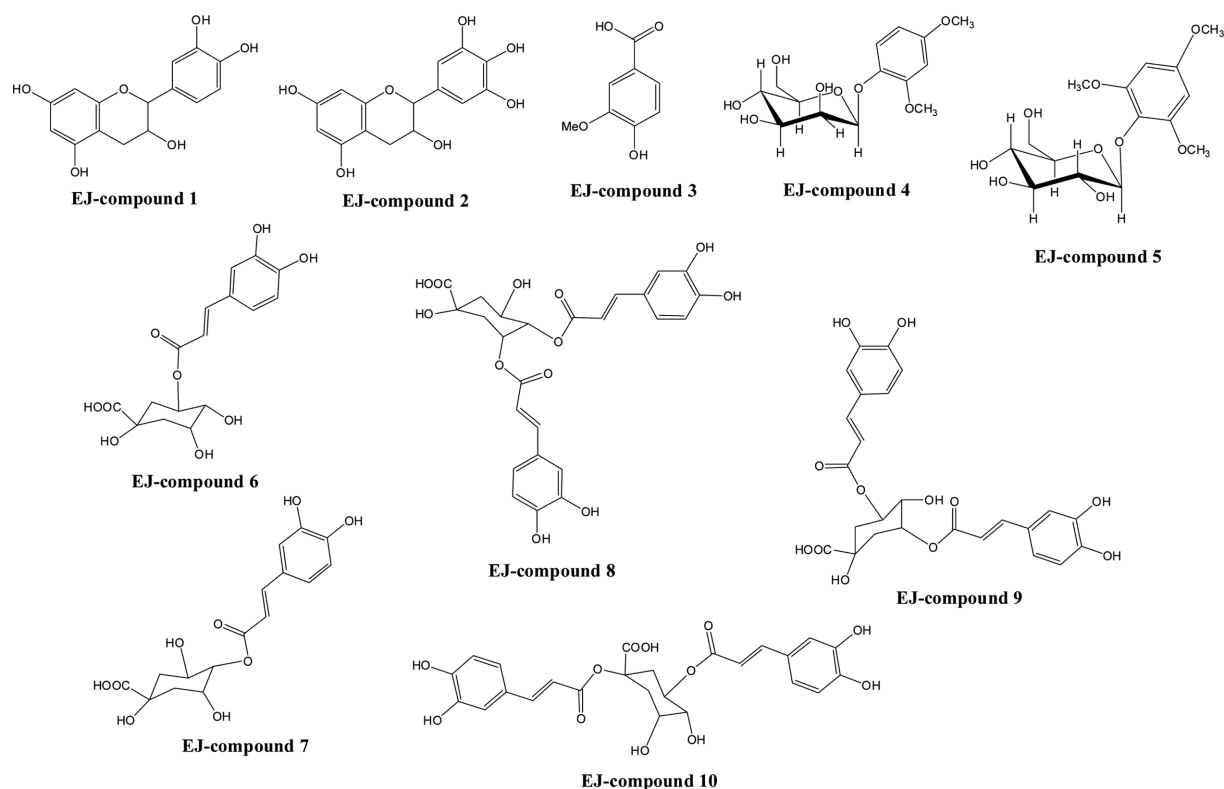


Figure 3. chemical structures of the compounds from the wood of *E. japonica*.

$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum 분석결과, 29.39 ppm값은 전형적인 flavan-3-ol의 C-4 peak로서 flavonoid가 갖는 carbonyl기가 치환되어 있지 않음을 알 수 있다. 67.64 ppm과 80.03 ppm의 peak들은 각각 C-3과 C-2에 해당되는 것으로 flavan-3-ol의 C환의 전형적인 signal을 나타내고 있다. 또한, 80.03, 67.64 ppm의 signal은 각각 C-2와 C-3의 peak로서 (+)-catechin보다 약간 upfield되어서 나타난다. 이것은 2, 3-*cis*형태임을 의미하며 (+)-catechin과 가장 잘 구분되는 signal들이다(Jennifer et al., 1999; Abdelaaty et al., 2006). B환의 구조는 catechol의 형태로서 146.09, 145.93 ppm에서 수산기가 결합된 C-3'과 C-4'의 signal이 나타나고 있다. 이상의 분석결과, compound 1은 (-)-epicatechin으로 구조를 동정하였다.

2) Compound 2

Compound 2은 EI-MS에서 분자량이 $m/z : 306 (M^+)$ 를 나타냈다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum 분석을 행한 결과, proton 2종의 signal이 5.90, 5.93 ppm에서 나타났으며, 두 개의 doublet signal은 coupling constant J 값이 2.2 Hz로 서로 *meta* coupling 하고 있는 H-8과 H-6의 peak로 이것은 phloroglucinol A환의 전형적인 signal을 보이고 있다. 6.50 ppm에서는 2H의 signal로써, B환의 H-2', H-6' signal로 확인하였다. 그리고 H-2와 H-3은 각각 4.74, 4.16 ppm에서 broad singlet signal을 나타내고 있는데, 이것은 H-2와

H-3이 *cis* 형태임을 나타내고 있다.

$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum 분석결과, 29.27 ppm값은 전형적인 flavan-3-ol의 C-4 peak로서 flavonoid가 갖는 carbonyl기가 치환되어 있지 않음을 알 수 있다. 67.66 ppm과 80.04 ppm의 peak들은 각각 C-3, C-2에 해당되는 것으로 flavan-3-ol의 C환의 전형적인 signal을 나타내고 있다. B환의 구조는 146.84 ppm과 133.76 ppm에서 수산기가 결합된 C-3', 5' 과 C-4'의 signal이 나타나고 있다(Yun et al., 2009). 이상의 분석결과, compound 2은 (-)-epigallocatechin으로 구조를 동정하였다.

3) Compound 3

Compound 3의 EI-MS에서는 $m/z : 168 (M^+)$ 를 나타냈다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum 측정 결과 aromatic sp^2 carbon proton으로 추정되는 3종의 proton signal이 6.82, 7.53, 7.55 ppm에 나타났으며, coupling constant J 값으로부터 각각 *ortho* coupling, *ortho* 및 *meta* coupling, *meta* coupling 하고 있는 peak임을 알 수 있어 tri-substituted benzene ring의 존재를 확인하였고, 3.88 ppm에서 3H의 proton peak가 나타나 1개의 methoxyl group이 있는 것으로 확인하였다. 이로서 compound 3은 benzoic acid에 methoxyl group이 결합된 compound임을 알 수 있었다. 또한, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum 측정 결과 170.27 ppm에서 carbonyl group의 signal을 확인하였으며, benzene ring에

귀속되는 6개의 carbon signal을 114.04~152.79 ppm에서 확인하였고, 56.58 ppm에서 methoxyl group의 peak를 확인하였다. 이상의 결과, compound 3는 vanillic acid로 구조를 동정하였다(Lee et al., 2008).

4) Compound 4

Compound 4 ESI-MS에서 분자량이 317(M⁺)을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum에서 anomeric carbon은 4.72 ppm에서 doublet으로 나타났으며 HMBC spectrum를 통하여 phenol ring 1번 carbon에 붙어 있음을 확인하였다. phenol ring에 기인하는 proton은 각각 6.83, 6.70, 6.55 ppm에서 나타나고 있으며 6.83 ppm의 proton은 coupling constant *J* 값은 8.8 Hz로 *ortho* coupling을 나타내고 6.70 ppm은 coupling constant *J* 값은 2.7 Hz로 *meta* coupling을 나타내며 6.55 ppm의 coupling constant *J* 값은 2.7, 8.7 Hz로 *ortho* 및 *meta* coupling을 나타내고 있다. 두 개의 methoxyl group은 HMBC spectrum에서 각각 C-2과 C-4에 붙어 있음을 확인할 수 있으며, 당의 anomeric carbon은 C-1번 위치에 붙어 있음을 확인할 수 있다. 따라서 phenol ring의 구조는 C-2과 C-4에 methoxyl group을 가지고 C-1의 위치에 glucose가 결합된 알 수 있었다. 이상의 결과, compound 4는 2,4-dimethoxyphenol-1-glucoside로 동정하였다.

5) Compound 5

Compound 5는 ESI-MS에서 분자량이 347(M⁺)을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum으로부터 anomeric carbon은 4.77 ppm에서 doublet으로 나타났으며 HMBC spectrum을 통하여 phenol ring 1번 carbon에 붙어 있음을 확인하였다. 3개의 methoxyl group은 HMBC spectrum에서 각각 C-2와 C-6, 그리고 C-4에 붙어 있음을 확인할 수 있으며, 당의 anomeric carbon은 C-1 위치에 붙어 있음을 확인할 수 있다. 따라서 phenol ring의 구조는 C-2, C-4과 C-6에 methoxyl group을 가지고 C-1 위치에 glucose가 결합된 알 수 있었다. 이상의 결과, compound 5는 2, 4, 6-trimethoxyphenol-glucoside로 동정하였다.

6) Compound 6

Compound 6은 ESI-MS에서 분자량이 355 (M⁺)을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum으로부터 9.00~10.00 ppm 사이에 phenylpropanoid인 caffeic acid에 기인하는 C-3', C-4'에 결합한 -OH기의 peak를 확인할 수 있으며 caffeic acid의 phenol ring의 3개의 proton을 그리고 acrylic functional groups에 해당하는 H-7'와 H-8'를 확인할 수 있다. Acrylic functional groups은 coupling constant *J* 값은 16.0 Hz로 이중결합을 사이에 두고 두 개의 proton이 서로 어긋나 있음을 알 수 있다. Phenol ring의 proton은 coupling constant

J 값이 2.0과 8.0 Hz로 서로 *ortho*, *meta* coupling을 하고 있으며, acrylic functional 인 -COOH를 가지는 caffeic acid임을 알 수 있다. H-5는 4.80 ppm에서 통상 나타나지만 phenylpropanoid가 결합하여 5.06 ppm으로 shift되어 나타나고 있다. ¹³C-NMR에서 175.00 ppm에서 quinic acid -COOH의 peak를 확인할 수 있으며 165.8 ppm에서 caffeic acid의 -COOH를 확인할 수 있다. 114.3~148.4 ppm 사이에서 phenylpropanoid에 기인하는 이중결합을 가진 8개의 peak를 확인할 수 있으며 -OH가 결합한 C-3'와 C-4'가 저자장측으로 shift되어 나타나고 있으며 phenol ring에 의해 C-7'가 저자장측으로 shift되어 나타나고 있다. 68.0 ppm에서 73.5 (s, C-1) ppm 사이에 4개의 quinic acid에서 기인하는 peak가 나타나고 있으며 quinic acid에서 -OH가 결합되지 않은 C-2와 C-6이 2급 탄소가 나타나는 36.2 ppm과 37.2 ppm 영역에서 나타나고 있다. 이상의 결과, compound 6은 C-5 위치에 caffeic acid가 결합한 5-caffeoylquinic acid로 구조를 동정하였다(Sook et al., 2010).

7) Compound 7

Compound 7은 ESI-MS에서 분자량이 355(M⁺)을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum으로부터 caffeic acid의 phenol ring의 3개의 proton을 그리고 acrylic functional groups에 해당하는 H-7'와 H-8'를 7.49 ppm과 6.27 ppm에서 대칭으로 나타나고 있음을 확인할 수 있으며 acrylic functional groups은 coupling constant *J* 값이 16.0 Hz로 이중결합을 사이에 두고 두 개의 proton이 서로 어긋나 있음을 알 수 있다. Phenol ring의 proton은 coupling constant *J* 값이 2.0과 8.0 Hz로 서로 *ortho*, *meta* coupling을 하고 있으며, acrylic functional 인 -COOH를 가지는 caffeic acid임을 알 수 있다. ¹³C-NMR에서 175.4 ppm에서 quinic acid -COOH의 peak를 확인할 수 있으며 166.3 ppm에서 caffeic acid의 -COOH를 확인할 수 있다. 114.6 ppm에서 148.3 ppm 사이에서 phenylpropanoid에 기인하는 이중결합을 가진 8개의 peak를 확인할 수 있으며 64.0 ppm에서 76.9 ppm 사이에 4개의 quinic acid에서 기인하는 peak가 나타나고 있으며 quinic acid에서 -OH가 결합되지 않은 C-2와 C-6이 2급 탄소가 나타나는 37.8 ppm과 40.7 ppm 영역에서 나타나고 있다. 이상의 결과, compound 7은 C-4 위치에 caffeic acid가 결합한 4-caffeoylquinic acid로 구조를 동정하였다(Sook et al., 2010).

8) Compound 8

Compound 8은 ESI-MS에서 분자량이 517(M⁺)을 나타냈다. ¹H-NMR spectrum으로부터 caffeic acid의 phenol ring의 6개의 proton을 그리고 acrylic functional groups에

해당하는 H-7', 7"와 H-8', 8"를 7.58 ppm과 6.29 ppm에서 대칭으로 나타나고 있음을 확인할 수 있으며 acrylic functional groups은 coupling constant J 값이 15.4 Hz와 16.3 Hz로 이중결합을 사이에 두고 두 개의 proton이 서로 어긋나 있음을 알 수 있다. Phenol ring의 proton은 coupling constant J 값이 2.0과 8.0 Hz로 서로 *ortho*, *meta* coupling을 하고 있으며 acrylic functional인 -COOH를 가지는 caffeic acid가 두 개임을 알 수 있다. ^{13}C -NMR에서 176.6 ppm에서 quinic acid -COOH의 peak을 확인할 수 있으며 167.20 ppm에서 caffeic acid의 -COOH 두개를 확인할 수 있다. 64.37 ppm에서 75.29 ppm 사이에 4개의 quinic acid에서 기인하는 peak이 나타나고 있으며 quinic acid에서 -OH가 결합되지 않은 C-2와 C-6이 2급 탄소가 나타나는 40.57 ppm과 35.63 ppm 영역에서 나타나고 있다. 이상의 결과, compound 8은 C-3과 C-4 위치에 caffeic acid가 결합한 3, 4-dicaffeoylquinic acid로 동정하였다(Kim et al., 2011).

9) Compound 9

Compound 9은 ESI-MS에서 분자량이 517(M^+)을 나타냈다. ^1H -NMR spectrum으로부터 caffeic acid의 phenol ring의 6개의 proton을 그리고 acrylic functional groups에 해당하는 H-7', 7"와 H-8', 8"를 7.60, 7.56 ppm과 6.37, 6.29 ppm에서 대칭으로 나타나고 있음을 확인할 수 있으며 acrylic functional groups은 coupling constant J 값이 16.0 Hz로 이중결합을 사이에 두고 두 개의 proton이 서로 어긋나 있음을 알 수 있다. Phenol ring의 proton은 coupling constant J 값이 2.3과 8.3 Hz로 서로 *ortho*, *meta* coupling을 하고 있으며 acrylic functional인 -COOH를 가지는 caffeic acid가 두 개임을 알 수 있다. ^{13}C -NMR에서 176.0 ppm에서 quinic acid -COOH의 peak을 확인할 수 있으며 166.95 ppm과 167.47 ppm에서 caffeic acid의 -COOH 두개를 확인할 수 있다. 113.68 ppm에서 148.20 ppm 사이에서 phenylpropanoid에 기인하는 이중결합을 가진 8개의 peak을 확인할 수 있었고, 69.27 ppm에서 73.34 ppm 사이에 4개의 quinic acid에서 기인하는 peak이 나타나고 있다. Quinic acid에서 -OH가 결합되지 않은 C-2와 C-6이 2급 탄소가 36.29 ppm과 34.62 ppm 영역에서 나타나고 있다. 이상의 결과, compound 9는 C-3과 C-5 위치에 caffeic acid가 결합한 3, 5-dicaffeoylquinic acid로 구조를 동정하였다(Kim et al., 2011).

10) Compound 10

Compound 10은 ESI-MS에서 분자량이 517(M^+)을 나타냈다. ^1H -NMR spectrum으로부터 caffeic acid의 phenol

ring의 6개의 proton을 그리고 acrylic functional group에 해당하는 H-7', 7"와 H-8', 8"를 7.62, 7.54 ppm과 6.19, 6.21 ppm에서 대칭으로 나타나고 있음을 확인할 수 있으며 acrylic functional group은 coupling constant J 값이 16.0 Hz로 이중결합을 사이에 두고 두 개의 proton이 서로 어긋나 있음을 알 수 있다. phenol ring의 proton은 coupling constant J 값이 2.3과 8.3 Hz로 서로 *ortho*, *meta* coupling을 하고 있으며 acrylic functional인 -COOH를 가지는 caffeic acid가 두 개임을 알 수 있다. ^{13}C -NMR에서 175.45 ppm에서 quinic acid -COOH의 peak을 확인할 수 있으며 166.80, 167.13 ppm에서 caffeic acid의 -COOH 두개를 확인할 수 있다. 67.59~74.36 ppm 사이에 4개의 quinic acid에서 기인하는 peak이 나타나고 있으며 quinic acid에서 -OH가 결합되지 않은 C-2와 C-6이 2급 탄소가 나타나는 37.02, 37.94 ppm 영역에서 나타나고 있다. 이상의 결과, compound 10 C-1과 C-5 위치에 caffeic acid가 결합한 1, 5-dicaffeoylquinic acid로 구조를 동정하였다(Heilmanna et al., 1999).

결론

사철나무 목부의 MeOH 조추출물로부터 column chromatography 등을 이용하여 10종의 페놀성 화합물을 분리하였다. 분리 화합물은 NMR, MS 등의 기기분석 결과, (-)-epicatechin (compound 1), (-)-epigallocatechin (compound 2), vanillic acid (compound 3), 2,4-dimethoxyphenol-1-glucoside (compound 4), 2, 4, 6-trimethoxyphenol-glucoside (compound 5), 5-caffeoylquinic acid (compound 6), 4-caffeoylquinic acid (compound 7), 3, 4-dicaffeoylquinic acid (compound 8), 3, 5-dicaffeoylquinic acid (compound 9), 1, 5-dicaffeoylquinic acid (compound 10)으로 각각 동정하였다.

인용문헌

- Lee Tchang Bok. 1982. *Illustrated Flora of Korea*. Hyangmunsu.
- Han, B.H., Park, M.K., Ryu, J.H., Park, J.H., and Naoki, Hideo. 1990. New sesquiterpene alkaloids from *Euonyus japonica*: Structures of eujaponine D, F, J and K. *Journal of Natural Products* 53(4): 909-914.
- Han, B.H., Park, M.K., Ryu, J.H., Park, J.H., and Naoki, Hideo. 1990. Sesquiterpene alkaloids from *Euonymus japonica*. *Pytochem* 29(4): 2303-2307.
- Smith, R.M. 1972. *The alkaloids Vol. 16* (R. H. F. Manske ed.). Academic Press, New York. p. 215.
- Kupchan, S.M. Komoda, Y., Court, W.A., Thomas, G.J., Smith, R.M., Karium, A., Gilmore, C.J., Haltiwanger, R.C., and

- Bryan, R.F. 1972. Maytansine a novel antileukemic ansa macrolide from *Maytenus ovatus*. Journal of the American Chemical Society 94: 1354.
- Beroza, M. 1951. Alkaloids from *T. willfordii* Hook-Wilfordine and Wilfordine. Journal of the American Chemical Society 73: 3656.
- Gonzalez, A.G., Jimenez, I.A., Ravelo, A.G., Sazatornil, J.G., Bazzocchi, I.L. 1993. New sesquiterpenes with antifeedant activity from *Maytenus canariensis*. Tetrahedron 49(3): 697-702.
- Donovan, J.L., Luthria, D.L., Stremple, P., and Waterhouse, A.L. 1999. Analysis of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their 3'- and 4'-O-methylated analogs A comparison of sensitive methods. Journal of Chromatography B. 726: 277-283.
- Shahat, A.A. 2006. Procyanidins from *Adansonia digitata*. Pharmaceutical Biology 44(6): 445-400.
- Yun, W., Qianqian, X., Wanting, D., Yoichiro, I. 2009. Separation of epigallocatechin and flavonoids from *Hypericum perforatum* L. by high-speed counter-current chromatography and followed by preparative liquid chromatography. J Chromatogr A. 1216(19): 4313-4318.
- Lee, K.H., Kim, K.H., Lee, I.K., Choi, S.U., and Lee, K.R. 2008. Phytochemical Constituents from the Aerial Parts of *Paris verticillata*. Korean Journal of Pharmacogn 39(2): 91-94.
- Hyun, S.K., Jung, H.A., Min, B.S., Jung, J.H., and Chai, J.S. 2010. Isolation of Phenolics, Nucleosides, Saccharides and Alkaloid from the root of *Aralia cordata*. Natural Product Sciences 16(1): 20-25.
- Kim, J.Y., Cho, J.-Y., Ma, Y.-K., Park, K.Y., Lee, S.-H., Ham, K.-S., Lee, H.J., Park, K.-H., and Moon, J.-H. 2011. Dicafeoylquinic acid derivatives and avonoid glucosides from glasswort (*Salicornia herbacea* L.) and their antioxidative activity. Food Chemistry 125: 55-62.
- Heilmann, J., Müller, E., and Merfort, I. 1999. Flavonoid glucosides and dicaeoylquinic acids from flowerheads of *Bupthalmum salicifolium*. Phytochemistry 51: 713-718.

(2013년 7월 15일 접수; 2014년 1월 18일 채택)