

노각나무 가지의 Phenolic 성분

배종진¹ · 광종환^{2*}

¹우석대학교 한약학과, ²성균관대학교 약학대학

Phenolic Compounds from the Twigs of *Stewartia pseudocamellia*

Jong Jin Bae¹ and Jong Hwan Kwak^{2*}

¹Department of Oriental Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

²School of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract – Ten phenolic compounds were isolated from the twigs of *Stewartia pseudocamellia*. The isolated compounds were identified as 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (1), 3,5,7,3',5'-pentahydroxyflavanone (2), quercetin (3), (+)-aromadendrin (4), (+)-ampelopsin (5), myricetin (6), (+)-catechin (7), (–)-epicatechin (8), kaempferol (9), and fraxin (10) by spectroscopic analysis. Compounds 1, 2, 4, 6, 8, and 9 were isolated from this plant for the first time. The antioxidant activities of compounds 1-10 were evaluated by the DPPH and/or ORAC (oxygen radical absorbance capacity) assay. Compounds 3, 5-9 showed significant antioxidative effects on DPPH assay. Among the active compounds, 6 exhibited higher activity compared to trolox on ORAC assay.

Key words – *Stewartia pseudocamellia*, Phenolic compound, Antioxidant activity, DPPH assay, ORAC assay

노각나무(*Stewartia pseudocamellia* Maxim.)는 차나무과(Theaceae)의 낙엽교목으로 우리나라 전라남·북도, 경상남·북도에 분포하며, 주로 지리산 지역에 자라고 있고 비교적 풍부한 자원을 보유하고 있다. 본 식물은 높이 7~15 m이며 수피는 얇은 조각으로 떨어져 적갈, 회백, 회갈색의 무늬가 생겨 얼룩덜룩하고, 꽃은 양성으로서 6~7월에 백색으로 피며, 새 가지의 기부에서 액생하고 과실은 삭과로 5각 난형이다.^{1,2)} 본 식물은 이명인 *Stewartia koreana* Nakai 또는 *Stewartia pseudocamellia* Maxim. var. *koreana* (Nakai) Kim. 이라 하여 꽃이 컵모양 이고 가지가 곧고 등글다고 특산종으로 보는 견해도 있으나^{2,4)} 현재 일본 등에도 분포하는 *Stewartia pseudocamellia* Maxim.로 주로 기록하고 있고,⁵⁾ 또 다른 이명으로는 *Stewartia ptero-petiolata* Cheng var. *koreana* (Rehd.) Sealy가 기록되어 있다.⁶⁾ 노각나무는 꽃이 크고 화려하여 관상용으로, 목재는 단단하고 무늬가 아름다워 가구재, 장식재 등으로 사용했으며, 나무껍질과 뿌리껍질은 모란(帽蘭)이라 하여 서근활혈(舒筋活血)의 효능이 있어 타박상으로 어혈이 진 것을 풀어주고 풍습성으로 인한 사지마비와 동통이 있을 때 유효한 것으로 기록하고 있다.^{2,3,7)}

노각나무의 식물화학적 및 생리활성에 관한 연구로는 Ahn 등이 가지로부터 dihydrochalcone 성분,⁸⁾ Lee 등이 가지에서 항산화활성 flavonoid,⁹⁾ Kim 등이 줄기로부터 분리한 phenolic compound의 항산화, 항염증활성 연구,¹⁰⁾ 그리고 Roh 등이 앞에서 phenolic compound와 그들의 미백활성¹¹⁾을 보고하였다. 노각나무 잎에서 얻어진 spinasterol glycoside의 항염증 관련활성은 Lee 등¹²⁾과 Jung 등¹³⁾이, 그리고 동일 성분의 피부보호활성은 Lee 등이 연구하였고,¹⁴⁾ Lee 등은 노각나무 추출물과 함유성분인 hyperin의 상처 치유효과를 보고하였다.¹⁵⁾ Park 등이 과골세포의 형성과 분화를 억제하는 것을 확인하였으며 *in vivo* 실험에서 염증성 골손실의 방지를 확인하였고,¹⁶⁾ Lee 등은 본 식물 추출물의 항염증 관련 활성을,¹⁷⁾ Kim 등은 줄기추출물이 LPS-activated RAW 264.7 cell에서 NO 생성의 억제를 보고하였으며,¹⁸⁾ 노각나무 잎 추출물의 angiogenesis 관련활성 또한 연구되었다.¹⁹⁾

이상에서 살펴본 바와 같이 그 효능적 중요성이 인정되는 노각나무의 함유성분에 관한 연구에 착수하여 10종의 phenolic compounds를 분리, 확인하였으며, 얻어진 화합물의 항산화 활성을 DPPH 및 ORAC assay 방법으로 평가하였다.

*교신저자(E-mail): jhkwak@skku.edu
(Tel): +82-31-290-7745

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 노각나무(*Stewartia pseudocamellia*)는 2008년 9월 전라북도 장안산 일대에서 채집하였으며 정확히 감정한 후 실온에서 음건하여 사용하였고, 확장증표본은 성균관대학교 약학대학에 보관하였다(표본번호: SKKU-Ph-08-45).

기기 및 시약 - $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ spectra는 Varian Unity INOVA 500 spectrometer로 측정하였고, ESI-MS는 Agilent 1100LC/MSD trap classic(Agilent)을 사용하였으며, UV spectrophotometer는 Agilent 8453 spectrophotometer(Agilent Technologies)을 이용하였다. Recycling HPLC는 JAIGEL-GS310 column이 장착된 JAI LC-908 Recycling Preparative HPLC에서 수행하였고 column chromatography용 충전제는 Kiesel gel 60(230~400mesh, Merck), Lipophilic Sephadex(25~100 μ , Sigma-Aldrich)와 LiChroprep RP-18(40~63 μ m, Merck)을 사용하였으며 TLC plate는 precoated Kiesel gel 60 F₂₅₄(Merck)와 precoated RP-18 F_{254s}(Merck)을 사용하였다. 추출과 column chromatography용 용매는 1급시약을 증류하여 사용하였고 recycling HPLC에는 HPLC급 용매를 적용하였으며 그 밖의 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

추출 및 분리 - 노각나무 가지 4 kg(건조중량)을 MeOH로 3회 반복 추출하고 감압, 농축하여 MeOH extract 145.8 g을 얻었다. 이를 증류수에 현탁하고 hexane, CH_2Cl_2 , EtOAc, *n*-BuOH 및 H_2O 가용부로 계통적 추출법에 의해 분획하여 hexane, CH_2Cl_2 , EtOAc, *n*-BuOH, H_2O extract를 각각 22.5 g, 15.3 g, 11.2 g, 17.8 g, 81 g 얻었다. EtOAc 분획 중 10 g을 silica gel로 open column chromatography($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}=30:10:7$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}=40:10:1$, 70:30:3)하여 9개의 소분획(E1~E9)으로 나누었다. E2 fraction(1071.7 mg)을 silica gel column(hexane/EtOAc/MeOH=10:10:0.3, 10:10:1, 10:10:2)에 적용하여 9개의 소분획(E-2-1~E-2-9)을 얻었고, 그 중 E-2-2(33.8mg)를 RP-18 column chromatography(47% MeOH)하여 8개의 소분획 E-2-2-1~E-2-2-8을 수득하였다. 이 중 E-2-2-3(7.6 mg)과 E-2-2-4(7.2 mg)를 각각 Sephadex LH-20 column에 적용하여 화합물 1(4.3 mg)과 4(3.9 mg)를 얻었다. 그리고 E-2-3(25 mg)을 MeOH를 전개용매로 한 Sephadex LH-20 column에 적용하여 화합물 1(2.1 mg)과 3(2.0 mg)을 분리하였고, 화합물 2(34.4 mg)는 소분획 E-2-4(71.4 mg)를 Sephadex LH-20 column(MeOH only)에 적용하여 얻었다. 화합물 5(22.4 mg) 역시 E-2-6(75.8 mg)분획을 MeOH를 전개용매로 Sephadex LH-20 column chromatography하여 얻었다. E3(2869.4 mg)을 Sephadex LH-20 column chromatography(MeOH only)에 적용하여 7개의 소분획 E-3-1~E-3-7로 나누었고, 이 중

E-3-6 분획을 20~50% MeOH로 RP-18 column chromatography하여 6개의 소분획을 얻었다. E-3-6-4을 recycling HPLC(MeOH)적용하여 화합물 5(23.5 mg)와 6(6.4 mg)을 분리, 정제하였다. E1 fraction(144.2mg)을 silica gel($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}=50:5:3\sim 30:10:7$)과 RP-18(25~50% MeOH), Sephadex LH-20(MeOH only) column chromatography를 반복 실시하여 화합물 7(3.2 mg), 8(5.1 mg), 9(3.0 mg)를 얻었다. 소분획 E-6를 Sephadex LH-20 column chromatography하여 6개의 분획 E-6-1~E-6-6로 나누었으며, E-6-3을 40% MeOH를 전개용매로 RP-18 column chromatography하여 다시 9개의 분획을 얻었고, 그 중 2번 분획에 MeOH를 소량 첨가한 후 결정화 하고 여과하여 백색분말상의 화합물 10(12.3 mg)을 얻었다.

화합물 1 - Yellow amorphous powder; UV (MeOH) λ_{max} : 230sh, 289, 330sh nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.66 (1H, dd, $J=17.0, 3.0\text{Hz}$, H-3a), 3.16 (1H, dd, $J=17.0, 12.5\text{Hz}$, H-3b), 5.35 (1H, dd, $J=12.5, 3.0\text{Hz}$, H-2), 5.85 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 5.85 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.73 (2H, s, H-2', 6'), 6.85 (1H, s, H-4'), 12.16 (1H, s, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 42.0 (C-3), 78.4 (C-2), 94.9 (C-8), 95.7 (C-6), 101.8 (C-10), 114.3 (C-2'), 115.4 (C-6'), 118.0 (C-4'), 129.4 (C-1'), 145.2 (C-3'), 145.6 (C-5'), 163.0 (C-5), 163.5 (C-9), 167.3 (C-7), 196.1 (C-4); ESI-MS (negative mode), m/z 287 [M-H]⁻

화합물 2 - White amorphous powder; UV (MeOH) λ_{max} : 230sh, 290, 330sh nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 4.50 (1H, brd, $J=11.0\text{Hz}$, H-3), 4.98 (1H, d, $J=11.0\text{Hz}$, H-2), 5.86 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 5.91 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.75 (2H, s, H-2', 6'), 6.88 (1H, s, H-4'), 11.89 (1H, brs, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 72.2 (C-3), 83.7 (C-2), 95.7 (C-8), 96.6 (C-6), 101.0 (C-10), 115.8 (C-4'), 116.1 (C-2'), 120.0 (C-6'), 128.7 (C-1'), 145.5 (C-5'), 146.5 (C-3'), 163.1 (C-9), 164.0 (C-5), 167.7 (C-7), 198.2 (C-4); ESI-MS (positive mode), m/z 327 [M+Na]⁺; ESI-MS (negative mode), m/z 303 [M-H]⁻

화합물 3 - Yellow amorphous powder; UV (MeOH) λ_{max} : 256, 268sh, 303sh, 372 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.16 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 6.37 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.86 (1H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-5'), 7.52 (1H, dd, $J=8.5, 2.0\text{Hz}$, H-6'), 7.65 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-2'), 12.46 (1H, brs, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 93.4 (C-8), 98.2 (C-6), 103.0 (C-10), 115.1 (C-2'), 115.6 (C-5'), 120.0 (C-6'), 122.0 (C-1'), 135.7 (C-3), 145.1 (C-3'), 146.8 (C-2), 147.7 (C-4'), 156.1 (C-9), 160.7 (C-5), 163.9 (C-7), 175.8 (C-4); ESI-MS (positive mode), m/z 325 [M+Na]⁺; ESI-MS (negative mode), m/z 301 [M-H]⁻

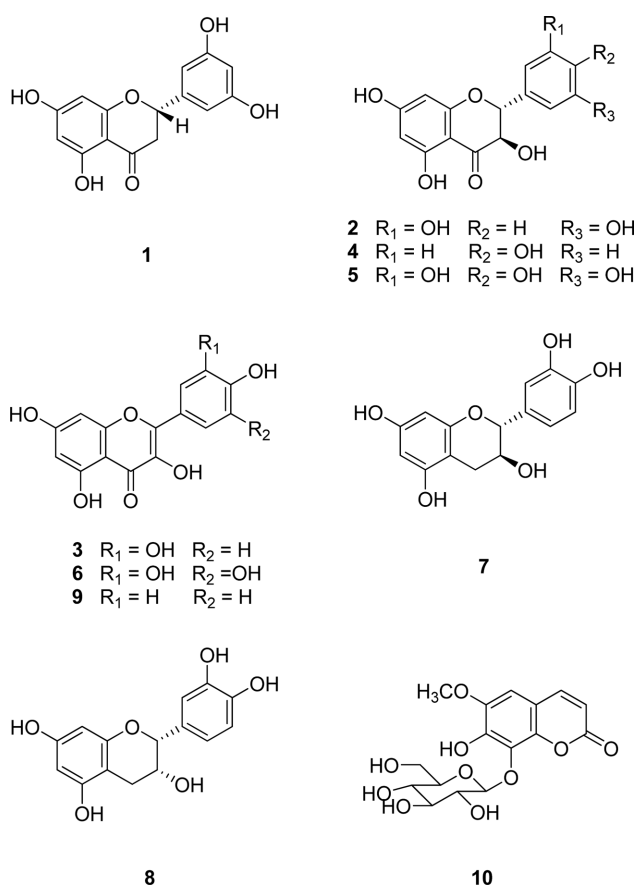


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-10 isolated from the twigs of *Stewartia pseudocamellia*.

화합물 4 – White amorphous powder; UV (MeOH) λ_{\max} : 215, 227sh, 292, 330sh nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 4.56 (1H, br d, $J=11.5\text{Hz}$, H-3), 5.02 (1H, d, $J=11.5\text{Hz}$, H-2), 5.83 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 5.88 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.76 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-3', 5'), 7.29 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-2', 6'), 11.89 (1H, brs, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 71.5 (C-3), 82.9 (C-2), 95.0 (C-8), 96.0 (C-6), 100.4 (C-10), 114.9 (C-3', 5'), 127.6 (C-1'), 129.5 (C-2', 6'), 157.8 (C-4'), 162.6 (C-9), 163.3 (C-7), 166.9 (C-5), 197.9 (C-4); ESI-MS (positive mode), m/z 311 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ESI-MS (negative mode), m/z 287 $[\text{M-H}]^-$

화합물 5 – White amorphous powder; UV (MeOH) λ_{\max} : 227sh, 292 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 4.42 (1H, brd, $J=11.0\text{Hz}$, H-3), 4.90 (1H, d, $J=11.0\text{Hz}$, H-2), 5.86 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 5.90 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.40 (2H, s, H-2', 6'), 11.89 (1H, brs, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 71.6 (C-3), 83.2 (C-2), 95.0 (C-8), 96.0 (C-6), 100.4 (C-10), 107.0 (C-2', 6'),

127.1 (C-1'), 133.5 (C-4'), 145.7 (C-3', 5'), 162.5 (C-9), 163.3 (C-5), 167.0 (C-7), 197.5 (C-4); ESI-MS (positive mode), m/z 343 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; ESI-MS (negative mode), m/z 319 $[\text{M-H}]^-$

화합물 6 – Yellow amorphous powder; UV (MeOH) λ_{\max} : 253, 267sh, 303sh, 373 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.17 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 6.36 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 7.24 (2H, s, H-2', 6'), 12.48 (1H, brs, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 93.9 (C-8), 98.9 (C-6), 103.6 (C-10), 107.9 (C-2', 6'), 121.5 (C-1'), 136.5 (C-3), 136.6 (C-4'), 146.4 (C-3', 5'), 147.5 (C-2), 156.8 (C-9), 161.4 (C-5), 164.8 (C-7), 176.4 (C-4); ESI-MS (negative mode), m/z 317 $[\text{M-H}]^-$

화합물 7 – White amorphous powder; UV (MeOH) λ_{\max} : 242sh, 281 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.35 (1H, dd, $J=16.3, 7.8\text{Hz}$, H-4a), 2.65 (1H, dd, $J=16.3, 5.0\text{Hz}$, H-4b), 3.81 (1H, m, H-3), 4.47 (1H, d, $J=7.5\text{Hz}$, H-2), 4.84 (1H, d, $J=5.0\text{Hz}$, 3-OH), 5.68 (1H, d, $J=2.3\text{Hz}$, H-6), 5.88 (1H, d, $J=2.3\text{Hz}$, H-8), 6.59 (1H, dd, $J=8.0, 1.5\text{Hz}$, H-6'), 6.68 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$, H-5'), 6.71 (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 28.5 (C-4), 67.0 (C-3), 81.7 (C-2), 94.5 (C-6), 95.8 (C-8), 99.8 (C-10), 115.2 (C-2'), 115.8 (C-5'), 119.1 (C-6'), 131.3 (C-1'), 145.5 (C-3'), 145.5 (C-4'), 156.0 (C-9), 156.9 (C-5), 157.1 (C-7); ESI-MS (negative mode), m/z 289 $[\text{M-H}]^-$

화합물 8 – White amorphous powder; UV (MeOH) λ_{\max} : 240sh, 280 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.47 (1H, dd, $J=16.3, 3.5\text{Hz}$, H-4a), 2.67 (1H, dd, $J=16.3, 4.5\text{Hz}$, H-4b), 3.99 (1H, brs, H-3), 4.62 (1H, brs, 3-OH), 4.72 (1H, s, H-2), 5.71 (1H, d, $J=2.3\text{Hz}$, H-6), 5.88 (1H, d, $J=2.3\text{Hz}$, H-8), 6.64 (1H, dd, $J=8.0, 1.8\text{Hz}$, H-6'), 6.65 (1H, d, $J=8.0\text{Hz}$, H-5'), 6.88 (1H, d, $J=1.8\text{Hz}$, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 28.9 (C-4), 65.6 (C-3), 78.8 (C-2), 94.8 (C-8), 95.8 (C-6), 99.2 (C-10), 115.5 (C-2'), 115.6 (C-5'), 118.7 (C-6'), 131.3 (C-1'), 145.1 (C-4'), 145.2 (C-3'), 156.5 (C-9), 156.9 (C-5), 157.2 (C-7); ESI-MS (negative mode), m/z 289 $[\text{M-H}]^-$

화합물 9 – Yellowish amorphous powder; UV (MeOH) λ_{\max} : 245sh, 255sh, 266, 295sh, 320sh, 364 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.18 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-6), 6.43 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.92 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-3', 5'), 8.04 (2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-2', 6'), 12.48 (1H, brs, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 93.5 (C-8), 98.3 (C-6), 103.0 (C-10), 115.4 (C-3', 5'), 121.7 (C-1'), 129.5 (C-2', 6'), 135.7 (C-3), 146.8 (C-2), 156.2 (C-9), 159.2 (C-4'), 160.7 (C-5), 164.1 (C-7), 175.9 (C-4); ESI-MS

(positive mode), m/z 309 [M+Na]⁺; ESI-MS (negative mode), m/z 285 [M-H]⁻

화합물 10 – White amorphous powder; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.10~3.70 (6H, m, Glc-H), 3.81 (3H, s, OCH₃), 4.96 (1H, d, *J*=7.5Hz, H-1'), 6.24 (1H, d, *J*=9.5Hz, H-3), 7.04 (1H, s, H-5), 7.89 (1H, d, *J*=9.5Hz, H-4); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 56.8 (OCH₃), 61.5 (C-6'), 70.3 (C-4'), 74.6 (C-2'), 76.9 (C-5'), 78.0 (C-3'), 104.6 (C-1'), 105.7 (C-5), 110.8 (C-10), 112.9 (C-3), 132.3 (C-8), 143.4 (C-6), 144.4 (C-4), 145.4 (C-9), 146.1 (C-7), 160.9 (C-2); ESI-MS (positive mode), m/z 393 [M+Na]⁺; ESI-MS (negative mode), m/z 369 [M-H]⁻

DPPH Free Radical 소거 활성 – 분리된 화합물을 EtOH에 일정 농도로 녹이고 각각을 희석하여 최종적으로 100, 50, 10, 5, 1 μg/ml의 5가지 농도로 실험하였다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 0.1 mM이 되도록 EtOH에 용해하고, 96well plate에 각 농도의 시료 용액 100 μl와 DPPH용액 100 μl 혼합액, 시료용액 100 μl에 EtOH 100 μl만 가한 액, DPPH 용액 100 μl와 EtOH 100 μl의 혼합액 및 200 μl EtOH를 각각 만들고 25°C에서 10분간 반응시킨 후 540 nm에서 microplate reader(EL808 Ultra Microplate Reader, BIO-TEK)로 흡광도를 측정하였다.²⁰⁾

ORAC Assay – DPPH free radical 소거 활성이 비교적 강한 화합물을 대상으로 peroxy radical의 생성과 소멸에 의한 fluorescent의 감소율 변화를 측정하여 항산화 활성을 평가하는 ORAC(oxygen radical absorbance capacity) assay 방법^{21,22)}을 적용하였다. 본 실험에 사용된 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride(AAPH), β-phycoerythrin(β-PE) 및 trolox는 Aldrich Chemical에서 구입하였고, 검액 및 표준액의 농도 별 희석과 실험용 시액의 제조에는 phosphate buffer를 사용하였다. 형광의 감소량 측정은 37°C에서 60분 동안 2분 간격으로 형광이 95% 감소될 때까지 기록하였으며, 그 측정은 fluorescent microplate reader (Synergy HT plate reader, BIO-TEK)에서 여기 및 방출 파장을 각각 530 nm와 590 nm로 하여 사용하였다.

결과 및 고찰

약효에 관한 선행연구로부터 그 효능적 중요성이 인정되는 노각나무의 함유성분에 관한 연구에 착수하였고, 먼저 노각나무 가지를 MeOH로 추출한 후 *n*-hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, *n*-BuOH 순서로 용매 분획하였다. EtOAc 분획을 silica gel column chromatography하여 소분획 E1-E9를 얻었고, 이중 E1, E2, E3 및 E6를 각종 column chromatography와 recycling HPLC에 적용하여 10개의 화합물을 분리하였다.

화합물 1~9는 TLC plate상의 발색과 NMR spectra의 양

상으로부터 모두 flavonoid 계열의 화합물임을 알 수 있었다. 화합물 1은 황색 무정형 분말로서 289, 330sh nm의 UV 흡수극대치와 NMR 및 ESI-MS spectral data로부터 분자량 288의 flavanone 화합물로 짐작하였다. ¹H-NMR spectrum의 δ 6.73(2H) 및 6.85(1H)에서 flavanone B-ring의 1,3,5-trisubstituted benzene ring에 의한 signal이 관찰되었고, δ 5.85에서 두 개의 H-6, H-8 proton이 각각 *J*=2.0Hz의 doublet으로 나타났다. δ 2.66 (dd, *J*=17.0, 3.0 Hz), 3.16 (dd, *J*=17.0, 12.5 Hz) 및 5.35 (dd, *J*=12.5, 3.0 Hz)에서 flavanone 유도체임을 알 수 있는 C-ring의 H-3a, H-3b, H-2 proton의 signal이 존재하였고, C-2위치의 stereochemistry는 H-2, H-3 proton의 coupling constant로부터 알 수 있었으며 이상의 결과와 ¹³C-NMR data로부터 1은 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone으로 결정하였고, 문헌²³⁾과의 spectral data 비교로부터 그 구조를 확정하였다. 화합물 2, 4는 UV 흡수극대치 또는 NMR spectra의 전체적인 형태로부터 dihydroflavonol화합물임을 예상하였다. ESI-MS spectra로부터 2, 4는 각각 304, 288의 분자량을 확인할 수 있었으며 ¹H-NMR spectra에서 flavonoid B-ring에 해당하는 proton의 chemical shift [2: δ 6.75 (2H, s), 6.88 (1H, s); 4: δ 6.76 (2H, d, *J*=8.5Hz), 7.29 (2H, d, *J*=8.5Hz)]를 제외하고는 거의 동일하였다. Dihydroflavonol의 특징인 C-ring의 configuration은 δ 4.42~5.02에서 나타난 H-2 및 H-3 proton의 coupling 양상으로부터 결정할 수 있었으며 이는 문헌과의 비교로부터 확인할 수 있었다. 이상의 결과로부터 화합물 2, 4는 dihydroflavonol에서 B-ring의 치환형태만 달리하는 화합물로 각각 3,5,7,3',5'-pentahydroxyflavanone,²⁴⁾ aromadendrin²⁴⁾으로 확정하였으며 ¹³C-NMR data를 포함한 이들의 spectral data는 문헌기록 값과 잘 일치하였다. 황색 무정형 분말의 화합물 6, 9는 UV 흡수극대치 또는 NMR spectral data, TLC plate 상의 발색양상으로부터 flavonol 화합물로 추정하였다. ¹H-NMR spectrum에서 화합물 6 및 9는 flavonoid B-ring의 proton이 6에서는 δ 7.24 (2H, s)에서 존재하였고 9는 각각 2개의 proton이 δ 6.92 (d, *J*=8.5Hz)와 8.04 (d, *J*=8.5Hz)에서 나타났다. 이상의 결과와 ¹³C-NMR spectral data로부터 화합물 6, 9는 각각 myricetin²⁵⁾ 및 kaempferol^{25,26)}로 규명하였으며 기기분석 data의 문헌 비교로부터 그 구조를 확정할 수 있었다. 화합물 8은 UV 흡수극대치(240sh, 280 nm)와 NMR spectral data로부터 flavan-3-ol 유도체로 추정하였다. ¹H-NMR에서 flavonoid H-2, 3, 4에 해당하는 proton의 chemical shift 및 coupling constant로부터 H-2 및 H-3의 configuration을 확인할 수 있었다. 이상의 결과와 문헌에 기록된 spectral data^{27,28)}의 비교로부터 화합물 8은 (-)-epicatechin으로 결정하였다. 화합물 3, 5, 7, 10은 기기분석 결과, 본 식물에서 이미 보고된 각각 quercetin,¹¹⁾ ampelopsin, (+)-catechin 및 fraxin⁹⁾으로 확인하

Table I. Scavenging effects of compounds **1-10** from the twigs of *Stewartia pseudocamellia* on DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical

Compounds	IC ₅₀ (µg/ml) ^a
1	85.3
2	92.5
3	13.7
4	81.1
5	4.0
6	6.5
7	12.8
8	6.9
9	11.9
10	40.3
L-Ascorbic acid	3.6

^aThe values indicate 50% decrease of DPPH radical.

Table II. Antioxidative activities of compounds isolated from the twigs of *Stewartia pseudocamellia* on ORAC assay

Compounds	ORAC _{PE} ^a
3	0.75±0.035
5	0.93±0.020
6	1.14±0.120
7	0.73±0.010
8	0.86±0.107
9	0.80±0.081
Trolox	1.00

^aThe ORAC value is expressed as relative trolox equivalent (mean±SE).

였다.

노각나무의 항산화 활성은 잎의 추출물에서 먼저 보고되었고,²⁹⁾ 그 가지의 추출물, 분획물 및 함유성분의 항산화 효능 또한 보고되었다.⁹⁾ 노각나무 가지로부터 분리된 10종의 phenolic 화합물의 항산화 활성을 DPPH assay 방법으로 측정된 결과, 화합물 **3**과 **5-9**는 강한 항산화 활성을 나타내었다(Table I). DPPH free radical 소거 활성에서 강한 효능을 나타낸 화합물을 대상으로 정확도를 높일 수 있는 방법인 ORAC assay법으로 항산화 활성을 재검토하였고, 그 결과 화합물 **5**와 **6**이 특히 강한 활성을 나타내었으며 화합물 **6**은 대조 물질인 trolox보다 높은 항산화 활성을 나타내었다(Table II).

결론

노각나무 가지의 MeOH추출물로부터 얻어진 EtOAc 분

획을 각종 column chromatography에 적용하여 10종의 화합물을 분리하였고, 그 이화학적 특징과 기기 분석 data를 활용하여 구조를 규명하였다. 분리된 화합물은 flavonoid인 5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone(**1**), 3,5,7,3',5'-pentahydroxyflavanone(**2**), quercetin(**3**), (+)-aromadendrin(**4**), (+)-ampelopsin(**5**), myricetin(**6**), (+)-catechin(**7**), (-)-epicatechin(**8**), kaempferol(**9**)과 coumarin glycoside인 fraxin(**10**)으로 문헌 비교를 통하여 확인, 동정하였다. 화합물 **1, 2, 4, 6, 8, 9**는 노각나무로부터 처음 분리, 보고되는 것이다. 분리된 화합물들 중 **3**과 **5-9**가 강한 DPPH free radical 소거 활성을 보여주었고, ORAC assay법을 이용한 항산화 활성 검색 결과, DPPH free radical 소거 활성물질 중 **5**와 **6**이 특히 의미있는 활성을 나타내었으며 화합물 **6**은 대조 물질인 trolox보다 강한 항산화 활성을 나타내었다.

인용문헌

1. 이창복 (2003) 원색대한식물도감(상), 741. 향문사, 서울.
2. 이우철 (1996) 원색한국기초집식물도감, 127. 아카데미서적, 서울.
3. 이영노 (1996) 원색한국식물도감, 226. 교학사, 서울.
4. 임록재, 김현삼, 박종송, 리용재, 라응칠, 리관필, 한경성 (1998) 조선식물지, 354-355. 과학기술출판사, 평양.
5. 장진성, 김휘, 장계선 (2011) 한국동식물도감 제43권 식물편(수목), 353. 디자인포스트, 과주.
6. Huxley, A., Griffiths, M. and Levy, M. (1999) The new royal horticultural society dictionary of gardening (4), 381. Macmillan Reference LTD, London.
7. 안덕균 (2000) 원색한국본초도감, 677. 교학사, 서울.
8. Ahn, D., Lee S. I., Yang, J. H., Kim, H. Y., Lee, J. H., Park J.-S. and Kim, D. K. (2011) Dihydrochalcone components from the twigs of *Stewartia koreana*. *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 229-232.
9. Lee, S. I., Yang, J. H. and Kim, D. K. (2010) Antioxidant flavonoids from the twigs of *Stewartia koreana*. *Biomol. Ther.* **18**: 191-196.
10. Kim, M. H., Jang, J. H., Oh, M. H., Heo, J. H. and Lee, M. W. (2014) The comparison of DPPH-scavenging capacity and anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the stems of *Stewartia koreana* Nakai. *Nat. Prod. Res.* **28**: 1409-1412.
11. Roh, H. J., Noh, H.-J., Na, C. S., Kim, C. S., Kim, K. H., Hong, C. Y. and Lee K. R. (2015) Phenolic compounds from the leaves of *Stewartia pseudocamellia* Maxim. and their whitening activities. *Biomol. Ther.* **23**: 283-289.
12. Lee, T. H., Jung, M., Bang, M. H., Chung, D. K. and Kim, J. (2012) Inhibitory effects of a spinasterol glycoside on lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and proinflammatory cytokines via down-regulating MAP kinase pathways and NF-κB activation in RAW264.7 macrophage

- cells. *Int. Immunopharmacol.* **13**: 264-270.
13. Jung, M.-R., Lee, T. H., Bang, M.-H., Kim, H., Son, Y., Chung, D. K. and Kim, J. (2012) Suppression of thymus- and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) production by 3-O- β -D-glucopyranosylspinasterol via blocking NF- κ B and STAT1 signaling pathways in TNF- α and IFN- γ -induced HaCaT keratinocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **427**: 236-241.
 14. Lee, T. H., Lee, S. M., Lee, D.-Y., Son, Y., Chung, D. K., Baek, N.-I. and Kim, J. (2011) A glycosidic spinasterol from *Koreana stewartia* promotes procollagen production and inhibits matrix metalloproteinase-1 expression in UVB-irradiated human dermal fibroblasts. *Biol. Pharm. Bull.* **34**: 768-773.
 15. Lee, T. H., Lee, G. W., Park, K. H., Mohamed, M. A., Bang, M. H., Baek, Y. S., Son, Y., Chung, D. K., Baek, N.-I. and Kim, J. (2014) The stimulatory effects of *Stewartia koreana* extract on the proliferation and migration of fibroblasts and the wound healing activity of the extract in mice. *Int. J. Mol. Med.* **34**: 145-152.
 16. Park, C. K., Kim, H. J., Kwak, H. B., Lee, T. H., Bang, M. H., Kim, C. M., Lee, Y. K., Chung, D. K., Baek, N.-I., Kim, J., Lee, Z. H. and Kim, H.-H. (2007) Inhibitory effects of *Stewartia koreana* on osteoclast differentiation and bone resorption. *Int. Immunopharmacol.* **7**: 1507-1516.
 17. Lee, T. H., Kwak, H. B., Kim, H.-H., Lee, Z. H., Chung, D. K., Baek N.-I. and Kim, J. (2007) Methanol extracts of *Stewartia koreana* inhibit cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression by blocking NF- κ B transactivation in LPS-activated RAW 264.7 cells. *Mol. Cells* **23**: 398-404.
 18. Kim, Y., Min, H.-Y., Park, H. J., Lee, E.-J., Park, E.-J., Hwang, H.-J., Jin, C., Lee, Y.-S. and Lee, S. K. (2004) Suppressive effects of nitric oxide synthase (iNOS) gene expression by *Calystegia soldanella* methanol extract on lipopolysaccharide-activates RAW 264.7 cells. *Eur. J. Cancer Prev.* **13**: 419-424.
 19. Lee, T. H., Lee, G. W., Kim, C. W., Bang, M.-H., Baek, N.-I., Kim, S.-H., Chung, D. K. and Kim, J. (2010) *Stewartia koreana* extract stimulates proliferation and migration of human endothelial cells and induces neovascularization *in vivo*. *Phytother. Res.* **24**: 20-25.
 20. Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenol on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 1919-1921.
 21. Gillespie, K. M., Chae, J. M. and Ainsworth, E. A. (2007) Rapid measurement of total antioxidant capacity in plants. *Nat. protoc.* **2**: 867-870.
 22. Kwak, J. H., Kim, H. J., Lee, K. H., Kang, S. C. and Zee, O. P. (2009) Antioxidative iridoid glycosides and phenolic compounds from *Veronica peregrina*. *Arch. Pharm. Res.* **32**: 207-213.
 23. Nessa, F., Ismail, Z., Mohamed, N., Haris, M. R. H. M. (2004) Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC leaves. *Food Chem.* **88**: 243-252.
 24. Kwak, J. H., Kang, M. W., Roh, J. H., Choi, S. U. and Zee, O. P. (2009) Cytotoxic phenolic compounds from *Chionanthus retusus*. *Arch. Pharm. Res.* **32**: 1681-1687.
 25. Qu, G.-Z., Si, C.-L. and Wang, M.-H. (2006) Antioxidant Constituents from *Leonurus japonica*. *Nat. Prod. Sci.* **12**: 197-200.
 26. Hong, H. K., Kwak, J. H., Kang, S. C., Lee, J.-W., Park, J. H., Ahn, J.-W., Kang, H.-S., Choung, E. S. and Zee, O. P. (2008) Antioxidative constituents from the whole plants of *Euphorbia supina*. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 260-264.
 27. Cecile, C.-O., Wieruszkeski, J.-M., Maes, E. and Rolando, C. (2002) Catechin and epicatechin deprotonation followed by 13 C-NMR. *Tetrahedron Lett.* **43**: 4545-4549.
 28. Morimoto, S., Nonaka, G.-I., Nishioka, I., Ezaki, N. and Takizawa, N. (1985) Tannins and related compounds. XXIX. Seven new methyl derivatives of flavan-3-ols and a 1,3-diarlypropan-2-ol from *Cinnamomum cassia*, *C. obtusifolium* and *Lindera umbellata* var. *membranacea*. *Chem. Pharm. Bull.* **33**: 2281-2286.
 29. Han, S. S., Lo, S. C., Choi, Y. W., Kim, J. H. and Baek, S. H. (2004) Antioxidant activity of crude extract and pure compounds of *Acer ginnala* Max.. *Bull. Korean Chem. Soc.* **25**: 389-391.

(2015. 11. 16 접수; 2015. 11. 24 심사; 2015. 11. 25 게재확정)