


Flavonoid Constituents of *Acacia catechu*

Seong Su Hong · Yun-Hyeok Choi · Hwa-Jin Suh · Min-Jung Kang ·
Jung-Hye Shin · Oh-Oun Kwon · Joa Sub Oh*

*Acacia catechu*의 플라보노이드 성분

홍성수 · 최윤혁 · 서화진 · 강민정 · 신정혜 · 권오운 · 오좌섭* 

Received: 23 March 2014 / Accepted: 13 April 2014 / Published Online: 30 June 2015
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2015

Abstract Ten compounds were isolated from the ethanolic extract of the leaves of *Acacia catechu* (Fabaceae), and their structures were identified as nine flavonoids [(+)-catechin (1), (-)-epicatechin (2), (+)-afzelechin (3), (-)-epiafzelechin (4), (+)-mesquitol (5), kaempferol (6), quercetin (7), quercetin 3-methyl ether (8), and caryatin (9)] and an ellagic acid (10). The chemical structures of these compounds were identified on the basis of spectroscopic methods (mass spectrometry, 1D and 2D nuclear magnetic resonance) and comparison with literature values. This is the first time that the isolation of caryatin (9) has been reported from *Acacia* genus.

Keywords *Acacia catechu* · caryatin · flavonoid · tannin

서론

콩과 식물(Fabaceae) 중에서 두 번째로 큰 속인 *Acacia*는 전 세계 거의 모든 서식지에서 1200여종이 분포하고 있다. *Acacia catechu* (폐구아선약, black catechu)는 해열, 구충, 가려움, 만성 설사, 이질, 소화 및 해독제로 사용되어 온 약용식물 중의 하나이다(Hashmat와 Hussain, 2013; Monu 등, 2014). 우리나라에서는 꼭두서니과(Rubiaceae)의 아선약나무(*Uncaria gambir*)를 엑스류 생약인 아선약(*gambir*)의 기원식물로 하고 있지만, 중국에서는 *A. catechu*를 기원식물로 보고 있다. 이 식물에 대한 식물 화학적 성분연구로는 flavonoids [(+)-catechin, (-)-epicatechin, epigallocatechin, rocatechin, phloroglucinol, procatechuic acid, quercetin, kaempferol, taxifolin], tannins (gallic acid, phlobatannin), steroids (poriferasterol, poriferasterol acylglucosides), triterpenoid (lupenone) 및 fatty acids 등이 보고 되어 있다 (Azad 등, 2001; Yadava와 Sodhi, 2002; Jain 등, 2007; Li 등, 2010; 2011; Lakshmi 등, 2012). 생리활성 연구로는 항균 및 항진균 효능, 항산화 및 항염 효능, 항암 효능, 간보호 및 상처치유 효능 등이 알려져 있다(Jayasekhar 등, 1997; Ray 등, 2006; Nagaraja 등, 2008; Alam 등, 2011; Anitha 등, 2011; Guleria 등, 2011; Lakshmi 등, 2011; Monga 등, 2011; Nadumane과 Nair, 2011). 또한, *A. catechu*는 염색제로 사용되기도 하며, 갈색을 얻을 수 있다(Nam과 Lee, 2010). 본 연구는 여러 생리활성 및 염색분야 등 다양하게 이용되는 이 식물의 식물화학적 성분연구의 일환으로 물 추출물의 ethyl acetate 분획에 대하여 column chromatography를 실시하여 10종의 화합물을 분리하고 그 구조를 규명하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

S. S. Hong and Y.-H. Choi contributed equally.

S. S. Hong · Y.-H. Choi · J. S. Oh
Gyeonggi Institute of Science & Technology Promotion, Suwon, Gyeonggi 443-270, Republic of Korea

H.-J. Suh · O.-O. Kwon
Gyeongbok Natural Color Industry Institute, Yeongcheon, Gyeongbuk 770-060, Republic of Korea

M.-J. Kang · J.-H. Shin
Namhae Garlic Research Institute, Namhae, Gyeongnam 668-812, Republic of Korea

J. S. Oh
College of Pharmacy, Dankook University, Cheonan, Chungnam 330-714, Republic of Korea

*Corresponding author (J. S. Oh: jaoh@dankook.ac.kr)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

실험 재료. 본 실험에서 사용한 *A. catechu*는 (재)경북천연염색 산업연구원으로 제공받아 실험에 사용하였으며, 표본(NPRT-P5)은 (재)경기과학기술진흥원 천연물연구팀에 보관하고 있다.

시약 및 기기. 비선광도는 Jasco P-2000 polarimeter (JASCO, Japan)를 사용하여 측정하였다. Nuclear magnetic resonance (NMR)은 Bruker Ascend III 700 (700 MHz) spectrometer (Bruker Biospin, Germany)를 이용하여 측정하였으며, electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS)는 LTQ Orbitrap XL mass spectrometer (Thermo Scientific, USA)를 사용하였다. Medium pressure liquid chromatography (MPLC)와 preparative high performance liquid chromatography (HPLC)는 Combi Flash Rf (Teledyne ISCO, USA)과 Shimadzu system (LC-8A pump, SPD-20A UV/VIS detector, Japan)을 각각 사용하였다. Thin layer chromatography (TLC) plate는 Merck (Germany)의 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (0.25 mm) 또는 RP-18_{254S} (0.25 mm)를 사용하였다. 발색시약으로는 10% vanillin/H₂SO₄ (in EtOH) 시약을 사용하였으며, UV의 검색은 254와 365 nm에서 확인하였다. 추출, 분획 및 MPLC에 사용한 모든 용매는 1급 시약을 사용하였고, preparative HPLC에 사용된 methanol (Honeywell B&J, USA)은 HPLC급 용매(99.9%)로 사용하였다. 물은 초순수 제조장치(Cascade™ RO water, Pall Corporation, USA)를 이용하여 3차 증류수를 사용하였다.

추출 및 분리. *A. catechu*의 건조 잎 1 kg에 catalase (Biotouch CAT200, AB Enzymes, Finland)를 1% 농도로 첨가하고 10 L의 증류수를 넣어 45°C에서 10시간 동안 반응시킨 후 80°C로 조절된 추출기(Cosmos660, Kyungseo, Korea)를 이용하여 2시간 동안 추출하였다. 그 후 추출물을 여과하여 농축기(Rotavapor R-220, Büchi, Switzerland)로 농축한 다음 분무건조기를 이용하여 분말화해 실험용 시료로 사용하였다. 분말시료에 대하여 증류수 500 mL을 가하여 현탁시키고 상법에 따라 동량의 CH₂Cl₂ (0.7 g), ethyl acetate (2.9 g) 및 *n*-BuOH (1.3 g)의 순으로 용매 분획하였다. Ethyl acetate 가용분획에 대하여 CHCl₃-MeOH 혼합용매를 이동상으로 하여 순상 컬럼(RediSep® Flash Column 80 g, USA)을 이용한 MPLC 수행하여 7개의 소분획(P5-52-1-7)을 얻었다. MeOH와 증류수 혼합용매를 이동상으로 preparative HPLC (YMC ODS H-80, 250×20 mm i.d., flow rate 8 mL/min)를 수행하여 소분획 P-52-7로부터는 화합물 10 (1.7 mg)을 얻었으며, P5-52-2로부터 화합물 1 (6.1 mg)와 화합물 2 (8.1 mg)을 각각 분리하였다. 소분획 P5-52-1에 대하여 MeOH와 증류수를 이동상으로 역상 컬럼을 이용한 MPLC를 수행하여 6 개

의 분획(P5-55-1-6)으로 나누었다. 반복된 preparative HPLC를 수행하여 소분획 P5-55-3으로부터 화합물 4 (2.4 mg), P5-55-4로부터 화합물 3 (4.6 mg)와 화합물 5 (4.3 mg), P5-55-5에서는 화합물 6 (1.1 mg)과 화합물 7 (3.1 mg)을 분리하였고, P5-55-6 으로부터 화합물 8 (1.6 mg)와 화합물 9 (1.2 mg)을 각각 분리 정제하였다.

화합물 1 [(+)-catechin]: brown powder; $[\alpha]_D^{24} +8.2$ (c 0.3, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ): 279 (3.52) nm; ¹H-NMR (700 MHz, CD₃OD) δ 6.83 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-2'), 6.75 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.71 (1H, d, $J=8.4, 1.4$ Hz, H-6'), 5.92 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.85 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 4.56 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-2), 3.97 (1H, td, $J=7.7, 5.6$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J=16.1, 5.6$ Hz, H-4a), 2.50 (1H, dd, $J=16.1, 7.7$ Hz, H-4b); ¹³C-NMR (175 MHz, CD₃OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 289 [M-H]⁻.

화합물 2 [(-)-epicatechin]: pale brown powder; $[\alpha]_D^{24} -35.5$ (c 0.25, CH₃OH); UV (CH₃OH); λ_{max} (log ϵ): 279 (3.27) nm; ¹H-NMR (700 MHz, CD₃OD) δ 6.97 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, $J=7.7, 2.1$ Hz, H-6'), 6.75 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-5'), 5.94 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.91 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 4.81 (1H, s, H-2), 4.17 (1H, brs, H-3), 2.86 (1H, dd, $J=16.8, 4.9$ Hz, H-4a), 2.73 (1H, dd, $J=16.8, 2.8$ Hz, H-4b); ¹³C-NMR (175 MHz, CD₃OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 289 [M-H]⁻.

화합물 3 [(+)-afzelechin]: pale brown powder; $[\alpha]_D^{24} +9.6$ (c 0.1, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ): 224 (3.40, sh), 274 (3.25) nm; ¹H-NMR (700 MHz, CD₃OD) δ 7.22 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 5.92 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.85 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 4.59 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-2), 3.98 (1H, td, $J=7.7, 5.6$ Hz, H-3), 2.88 (1H, dd, $J=16.1, 5.6$ Hz, H-4a), 2.50 (1H, dd, $J=16.1, 8.4$ Hz, H-4b); ¹³C-NMR (175 MHz, CD₃OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 273 [M-H]⁻.

화합물 4 [(-)-epiafzelechin]: brown powder; $[\alpha]_D^{24} -49.9$ (c 0.15, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ): 224 (3.45, sh), 274 (3.14) nm; ¹H-NMR (700 MHz, CD₃OD) δ 7.31 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 5.94 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.91 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 4.87 (1H, s, H-2), 4.18 (1H, brs, H-3), 2.87 (1H, dd, $J=16.8, 4.9$ Hz, H-4a), 2.74 (1H, dd, $J=16.8, 2.8$ Hz, H-4b); ¹³C-NMR (175 MHz, CD₃OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 273 [M-H]⁻.

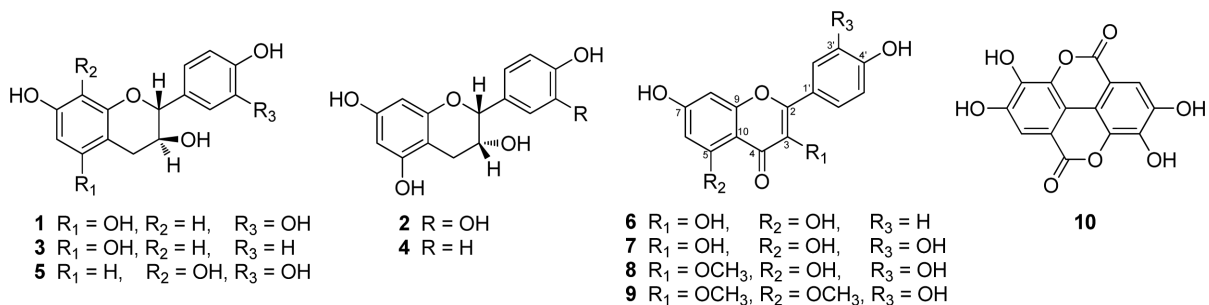


Fig. 1 Structures of compounds 1–10.

Table 1 ^{13}C -NMR data of compounds **1-9** (CD_3OD , 175 MHz)

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	83.0	80.0	83.0	80.1	83.1	148.1	148.1	158.1	155.6
3	69.0	67.6	69.0	67.6	68.9	137.3	137.4	139.7	141.6
4	28.7	29.4	29.1	29.5	33.0	177.6	177.5	180.1	176.3
5	157.7	158.2	157.6	157.7	120.4	162.7	162.7	163.2	162.7
6	96.4	96.5	96.4	96.5	109.5	99.5	99.4	100.0	97.4
7	157.9	157.8	157.9	157.9	145.3	165.8	165.8	166.3	165.3
8	95.6	96.0	95.6	96.0	134.0	94.6	94.6	94.9	96.2
9	157.0	157.5	157.0	157.6	144.1	160.7	158.4	158.6	160.4
10	100.9	100.2	101.0	100.2	113.5	104.7	104.7	105.9	108.7
1'	132.3	132.4	131.6	131.8	132.3	123.9	124.3	123.1	123.3
2'	115.3	115.5	129.8	129.3	115.2	130.8	116.1	116.5	116.4
3'	146.3	145.9	116.2	115.9	146.5	116.4	146.4	146.6	146.6
4'	146.4	146.0	158.5	158.1	146.5	158.4	148.9	150.1	149.7
5'	116.2	116.0	116.2	115.9	116.3	116.4	116.4	116.6	116.5
6'	120.2	119.5	129.8	129.3	119.9	130.8	121.8	122.4	122.1
3-OCH ₃								60.6	60.4
5-OCH ₃									56.6

화합물 **5** [(+)-mesquitol]: brown powder; $[\alpha]_D^{24} +7.2$ (c 0.02, CH_3OH); UV (CH_3OH) λ_{max} (log ϵ): 224 (3.42, sh), 274 (3.28) nm; $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ 6.85 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-2), 6.76 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.73 (1H, d, $J=8.4$, 1.4 Hz, H-6'), 6.40 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.37 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 4.77 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-2), 4.07 (1H, td, $J=7.0$, 4.9 Hz, H-3), 2.87 (1H, dd, $J=15.4$, 4.9 Hz, H-4a), 2.70 (1H, dd, $J=15.4$, 7.7 Hz, H-4b); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 289 $[\text{M-H}]^-$.

화합물 **6** (kaempferol): amorphous yellow solid; UV (CH_3OH) λ_{max} (log ϵ): 252 (4.25), 347 (4.34) nm; $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ 8.09 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 285 $[\text{M-H}]^-$.

화합물 **7** (quercetin): amorphous yellow solid; UV (CH_3OH) λ_{max} (log ϵ): 256 (4.25), 372 (4.34); $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ 7.73 (1H, brs, H-2'), 7.64 (1H, brd, $J=8.4$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 301 $[\text{M-H}]^-$.

화합물 **8** (quercetin 3-methyl ether): pale yellow amorphous powder; UV (CH_3OH) λ_{max} (log ϵ): 256 (4.12), 359 (4.25); $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ 7.62 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.53 (1H, d, $J=8.4$, 2.1 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 3.78 (3H, s, 3-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 315 $[\text{M-H}]^-$.

화합물 **9** (caryatin): pale yellow amorphous powder; UV (CH_3OH) λ_{max} (log ϵ): 256 (4.09), 371 (4.21); $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ 7.61 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.51

(1H, d, $J=8.4$, 2.1 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.49 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.40 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 3.90 (3H, s, 5-OCH₃), 3.76 (3H, s, 3-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) data see Table 1; ESIMS (negative) m/z 329 $[\text{M-H}]^-$.

화합물 **10** (ellagic acid): white amorphous powder; UV (CH_3OH) λ_{max} (log ϵ): 254 (4.64), 368 (3.87) nm; $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.47 (2H, s, H-5, 5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 159.1 (C-7, 7'), 148.1 (C-4, 4'), 139.5 (C-3, 3'), 136.4 (C-2, 2'), 112.3 (C-6, 6'), 110.2 (C-5, 5'), 107.7 (C-1, 1'); ESIMS (negative) m/z 301 $[\text{M-H}]^-$.

HPLC System 및 Condition - 실험에 사용된 분석용 HPLC는 Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA) 장치를 활용하였다. 분석시료 *A. catechu*의 ethyl acetate 분획물은 주입전에 0.45 μm syringe filter로 여과하여 분석하였다. 이동상으로 A 용매로서 0.05% trifluoroacetic acid 수용액과 B 용매로서 메탄올의 혼합용액을 programmed gradient elution 방법으로 용리하였다. Gradient elution system은 (A)/(B)=0.05% trifluoroacetic acid aq. (v/v)/methanol (A/B, v/v) as a gradient elution: Initiation-20% B, 20 min-70% B, 30 min-100% B, 40 min-100% B 조건으로 수행하였다. Kromasil 100-5-C18 컬럼 (250 \times 4.6 mm, Kromasil, Sweden) 컬럼온도는 30°C를 유지하였다. 유속은 1.0 mL/min로 검출기는 DAD (diode array detector)를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

*A. catechu*로부터 얻은 열수추출물 분말에 대하여 통상적인 방법으로 분획하여 CH_2Cl_2 , ethyl acetate 및 *n*-BuOH엑스를 제조하였다. 이 중 ethyl acetate 가용 분획물에 대하여 MPLC와 preparative HPLC 등을 반복 실시하여 9종의 flavonoid (화합물 **1-9**)와 1종의 tannin (화합물 **10**)을 분리, 정제하였다. 분리한 화합물은 1D, 2D NMR 및 MS 등의 기기분석 및 문헌과의 비

교를 통하여 구조를 규명하였다(Fig. 1).

화합물 1과 2는 NMR 분광학적 데이터 및 비선광도를 문헌과 비교하여 각각 (+)-catechin과 (-)-epicatechin으로 구조동정하였고, negative mode의 ESI-MS를 측정하여 m/z 289 [M-H]⁻에서 molecular ion peak를 확인하였다(Kwon 등, 2011).

화합물 3은 황갈색 분말로 FeCl₃ test와 anisaldehyde-sulfuric acid 시약에 양성을 나타내었으며, 비선광도는 $[\alpha]_D^{24}$ +9.6 (c 0.1, CH₃OH), UV spectrum에서는 224 nm와 274 nm에서 특징적인 흡수극대를 나타내어 flavan-3-ol 계열의 화합물임을 추정하였다. ESI-MS spectrum (negative mode)에서는 m/z 273에서 molecular ion peak를 관찰할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서는 δ 7.22 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6')와 6.78 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5')에서 A₂B₂ system (1,4-substituted aromatic ring)의 존재를 확인하였고, δ 5.92 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6)와 5.85 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8)에서 두 개의 meta-coupling하고 있는 doublet signal은 A-ring의 5,7-dihydroxylation pattern을 추정할 수 있었다. 또한, H-2에 의해 나타난 δ 4.59 (1H, d, $J=7.7$ Hz) proton signal과 H-3의 δ 3.98 (1H, td, $J=7.7, 5.6$ Hz) signal, 그리고 H₂-4의 δ 2.88 (1H, dd, $J=16.1, 5.6$ Hz, H-4a)과 2.50 (1H, dd, $J=16.1, 8.4$ Hz, H-4b)에서 관찰된 두 개의 double doublet signal은 (+) *trans* catechin type임을 추정할 수 있었다(Liu 등, 2006). 또한, ¹³C-NMR spectrum에서 15개의 carbon signal을 관찰할 수 있었다. 이상의 기기분석 결과 및 문헌과의 비교로 화합물 3은 분자식 C₁₅H₁₄O₆인 (+)-afzelechin으로 확인, 동정하였다(Saraswathy와 Vidhya, 2012).

화합물 4는 FeCl₃ 반응에 양성이며 vanillin-hydrochloric acid 시약을 이용한 TLC 발색결과 선홍색을 나타내므로 flavan-3-ol로 추정하였으며, ¹H- 및 ¹³C-NMR 데이터는 화합물 3 [(+)-afzelechin]과 유사한 패턴을 확인할 수 있었다. 비선광도는 $[\alpha]_D^{24}$ -49.9 (c 0.15, CH₃OH)로 확인하였고, negative mode의 ESI-MS를 측정하여 m/z 273 [M-H]⁻에서 molecular ion peak를 확인하였다. 이를 종합하여 문헌과 비교하여 화합물 4는 (-)-epiafzelechin으로 구조를 규명하였다(Kpegba 등, 2011).

화합물 5는 갈색 분말로 얻어졌으며, TLC를 전개하여 vanillin-hydrochloric acid 발색시약을 분무하여 가열하면 선홍색으로 발색되어 flavan-3-ol 계열로 추정하였다. ¹H-NMR spectrum에서는 aromatic 영역의 δ 6.40 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.37 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6)에서 ortho-coupling하는 2개의 aromatic proton signal이 관찰되었고, δ 6.85 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5') 및 6.73 (1H, d, $J=8.4, 1.4$ Hz, H-6')에서 전형적인 1,3,4-trisubstituted benzene signal이 확인되었다. 또한, flavan 3-ol의 C-ring에 기인하는 proton signal이 δ 4.77 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-2), 4.07 (1H, td, $J=7.0, 4.9$ Hz, H-3), 2.87 (1H, dd, $J=15.4,$

4.9 Hz, H-4a) 및 2.70 (1H, dd, $J=15.4, 7.7$ Hz, H-4b)이 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 flavan 3-ol 계열의 C-ring에 기인하는 2개의 oxy-methine carbon signal (δ 83.1과 68.9)와 1개의 methylene signal (δ 33.1)을 포함하여 총 15 개의 carbon이 확인되었으며, 비선광도 $[\alpha]_D^{24}$ +7.2 (c 0.02, CH₃OH)를 관찰하였다. 이상의 결과를 검토하여 화합물 5는 (+)-mesquitol로 추정하였으며, 기존 문헌의 data와 비교하여 확인·동정하였다(Jagadeeshwar Roa 등, 2003).

화합물 6은 노란색 분말로 negative mode의 ESI-MS로부터 m/z 285 [M-H]⁻에서 molecular ion peak가 관찰되어 분자량을 286으로 확인하였다. ¹H-NMR spectrum에서 전형적인 flavonoid의 aglycone 화합물에 의한 peak가 나타났으며, δ 8.09 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6')와 δ 6.90 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5')에서 B-ring의 ortho-coupling하는 proton이 δ 6.40 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8)과 δ 6.18 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6)에서 A-ring의 meta-coupling하는 peak들이 확인되어 flavonoid 계열 화합물인 kaempferol로 추정하였으며, ¹³C-NMR spectrum 자료와 함께 문헌치를 비교하여 확정하였다(Chang 등, 2000).

화합물 7은 FeCl₃ 시액과 magnesium-hydrochloric acid 반응에 양성으로 flavonoid 계열 화합물임을 알 수 있었으며 ESI-MS spectrum으로부터 m/z 301 [M-H]⁻에서 molecular ion peak가 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 aromatic 영역에서 δ 6.39 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8)와 6.18 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6)에서 meta-coupling하는 2개의 aromatic proton signal이 관찰되었으며, δ 7.73 (1H, brs, H-2'), 7.64 (1H, brd, $J=8.4$ Hz, H-6') 및 6.88 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5')에서 전형적인 1,3,4-trisubstituted benzene signal이 확인되었다. ¹³C-NMR spectrum에서는 한 개의 carbonyl carbon (δ 177.5)을 포함하여 15개의 carbon이 확인되었다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌과 비교하여 화합물 7을 quercetin으로 확인·동정하였다(Selvaraj 등, 2013).

화합물 8은 미황색 분말로 분리되었으며, magnesium-hydrochloric acid 양성반응과 UV spectrum에서 전형적인 flavonoid 계열의 특징을 보여주었다. ESI-MS spectrum으로부터 m/z 315 [M-H]⁻에서 molecular ion peak가 관찰되어 분자량을 316으로 확인하였다. 화합물 8은 ¹H-NMR spectrum의 aromatic 영역에서 화합물 7과 매우 유사한 양상을 나타내었다. δ 6.40 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8)과 6.20 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6)에서 meta-coupling하는 2개의 aromatic proton signal이 관찰되었고, δ 7.62 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.53 (1H, d, $J=8.4, 2.1$ Hz, H-6') 및 6.90 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5')에서 전형적인 1,3,4-trisubstituted benzene signal이 확인되었으며, 추가적으로 한 개의 methoxy group [δ 3.78 (3H, s)]에 기인하는 signal을 확인하였다. ¹³C-NMR spectrum에서는 한 개의 carbonyl

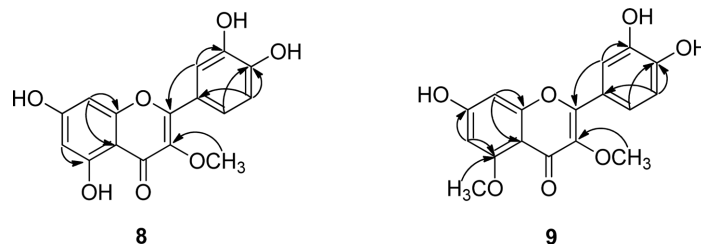


Fig. 2 Key HMBC correlation of compounds 8 and 9.

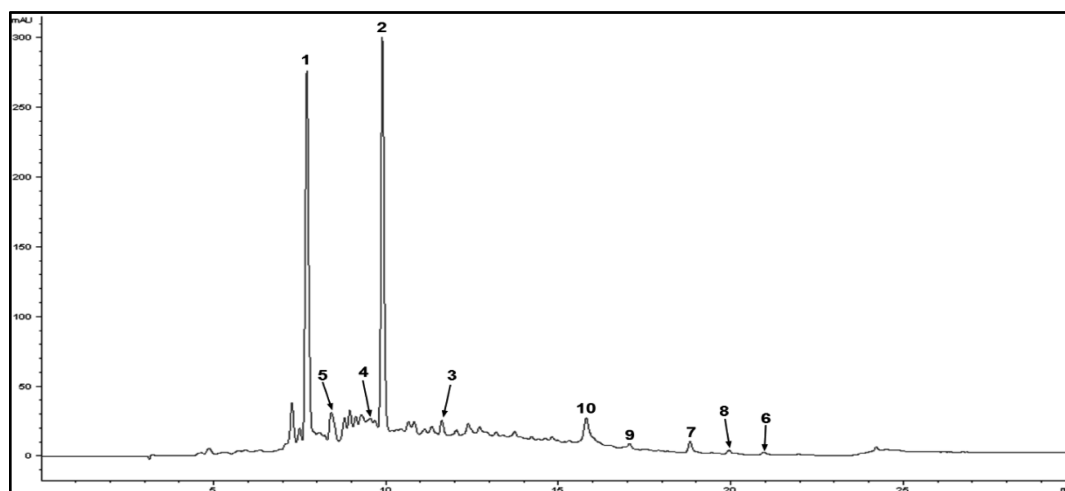


Fig. 3 HPLC-DAD chromatogram (280 nm) of *A. catechu* ethyl acetate fraction. Compounds are identified in the figure by number: 1 - (+)-catechin, 2 - (-)-epicatechin, 3 - (+)-afzelechin, 4 - (-)-epiafzelechin, 5 - (+)-mesquitol, 6 - kaempferol, 7 - quercetin, 8 - quercetin 3-methyl ether, 9 - caryatin, 10 - ellagic acid.

carbon (δ 180.1)과 한 개의 methoxy signal (δ 60.6)을 포함하여 16개의 carbon이 확인되었다. Methoxy group의 결합 위치는 HMBC spectrum에서 methoxy proton signal (δ 3.78)과 C-3 (δ 139.7)의 correlation을 통하여 methoxy group이 flavonoid 골격 C-3의 위치에 결합하였음을 확인하였다(Fig. 2). 이상의 spectrum data의 결과를 종합하여 문헌과 비교 검토한 결과 화합물 8은 quercetin 3-methyl ether로 구조 규명하였다(Lee 등, 2003; Ahmadu 등, 2011).

화합물 9 역시 화합물 7과 ^1H 및 ^{13}C NMR spectra가 유사하여 flavonoid 계열임을 추정하였으며, ESI-MS로부터 m/z 329 [M-H]에서 molecular ion peak가 관찰되어 화합물 8과 비교하여 14 amu 차이를 보이는 것과 동시에 ^1H -NMR spectrum에서 δ 3.90 (3H, s)과 17개의 carbon signal로부터 methoxy group이 추가로 결합하고 있음을 추정하였다. 추가된 methoxy group의 결합 위치는 HMBC spectrum에서 methoxy proton signal (δ 3.90)과 C-5 (δ 162.7)의 correlation을 통하여 methoxy group이 flavonoid 골격 C-5의 위치에 결합하였음을 확인하였다(Fig. 2). 이상의 spectrum data의 결과를 종합하여 화합물 9는 quercetin 3,5-dimethyl ether 즉 caryatin으로 결정하였으며 *Acacia* 속 식물로부터 처음 분리, 보고되는 화합물이다. 문헌조사 결과 caryatin은 *Daphne mucronata* (Ulubelen 등, 1990), *Carya illinoensis* (Abdallaha 등, 2011), *Dioscorea bulbifera* (Gao 등, 2002) 등에서 보고된 바 있으며, CD₃OD 용액 중에서 측정된 NMR 데이터를 처음으로 제시하였다.

화합물 10은 흰색 분말로 얻어졌으며, UV spectrum에서는 254와 354 nm에서 강한 흡수대를 나타내었다. 분자량은 negative mode ESI-MS에서 m/z 301 [M-H]에서 관측되어 302로 결정하였다. ^1H -NMR spectrum에서는 aromatic 영역에서 δ 7.47 (2H, s, H-5, 5')의 존재를 확인하였고, ^{13}C -NMR spectrum에서는 δ 159.1 (C-7, 7)에서 carbonyl carbon을 포함하여 7개의 carbon signal을 관찰하였다. 이상의 데이터와 문헌을 비교하여 화합물 10은 gallic acid 두 분자가 결합된 형태의 ellagic acid로 구조를 규명하였다(Kim 등, 2010).

그리고 ethyl acetate 분획물에 대하여 HPLC-DAD를 이용하여 패턴 분석을 진행하였으며, 분리된 화합물의 chemical

profiling을 확인하였다(Fig. 3). 이상의 결과로 분리된 화합물들은 다양한 생리활성이 보고되어 있으며, 최근 연구에서 ellagic acid는 항간질 활성(Dhingra와 Jangra, 2014), (-)-epiafzelechin은 골질 보호작용(Wong 등, 2014), quercetin과 kaempferol은 peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) 작용물질(Wang 등, 2014), (+)-afzelechin은 α -glucosidase 저해작용(Saijyo 등, 2008), (-)-epicatechin은 지사작용(Velázquez 등, 2012), quercetin 3-methyl ether는 신경보호작용(Dok-Go 등, 2003), (+)-catechin과 caryatin의 발암억제 효과(Gao 등, 2002) 등의 활성이 보고되고 있다.

초 록

전통생약으로서 다양한 효능과 염색제로서 사용되어온 *A. catechu*의 식물화학적 성분연구를 위해 열수추출물 중 ethyl acetate 분획물로부터 9종의 flavonoid와 1종의 tannin을 분리하였으며, 이들의 물리화학적 성상과 spectral data로부터 구조를 확인한 결과 (+)-catechin (1), (-)-epicatechin (2), (+)-afzelechin (3), (-)-epiafzelechin (4), (+)-mesquitol (5), kaempferol (6), quercetin (7), quercetin 3-methyl ether (8) caryatin (9) 및 ellagic acid (10)로 각각 확인 동정하였다. 이들 화합물 중 caryatin (9)은 *Acacia* 속으로부터 처음으로 분리되었다.

Keywords 페구아선약 · *Acacia catechu* · caryatin · flavonoid · tannin

감사의 글 본 연구는 산업통상자원부에서 시행한 지역특화기술융복합연구 지원사업 (천연색소 자원을 활용한 기능성 소재의 total beauty 산업화, R0002039)의 지원으로 이루어진 결과로, 이에 감사드립니다.

References

Abdallaha HM, Salama MM, Abd-elrahman EH, and El-Maraghy SA (2011) Antidiabetic activity of phenolic compounds from Pecan bark in

- streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytochem Lett* **4**, 337–41.
- Ahmadu AA, Onanuga A, and Ebeshi BU (2011) Isolation of antibacterial flavonoids from the aerial parts of *Indigofera secundiflora*. *Phcog J* **3**, 25–8.
- Alam G, Singh MP, and Singh A (2011) Wound healing potential of some medicinal plants. *Inter J Pharm Sci Rev Res* **9**, 136–49.
- Anitha Roy, Geetha RV, and Lakshmi T (2011) *In vitro* evaluation of anti mycotic activity of heartwood extract of *Acacia catechu* Willd. *J Pharm Res* **4**, 2010–1.
- Azad AK, Ogiyama K, and Sassa T (2001) Isolation of (+)-catechin and a new polyphenolic compound in Bengal catechu. *J Wood Sci* **47**, 406–9.
- Chang YC, Chang FR, and Wu YC (2000) The constituents of *Lindera Glauca*. *J Chin Chem Soc* **47**, 373–80.
- Dhingra D and Jangra A (2014) Antiepileptic activity of ellagic acid, a naturally occurring polyphenolic compound, in mice. *J Funct Foods* **10**, 364–9.
- Dok-Go H, Lee KH, Kim HJ, Lee EH, Lee J, Song YS et al. (2003) Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Brain Res* **965**, 130–6.
- Gao H, Kuroyanagi M, Wu L, Kawahara N, Yasuno T, and Nakamura Y (2002) Antitumor-promoting constituents from *Dioscorea bulbifera* L. in JB6 mouse epidermal cells. *Biol Pharm Bull* **25**, 1241–3.
- Guleria S, Tiku A, Singh G, Vyas D, and Bhardwaj A (2011) Antioxidant activity and protective effect against plasmid DNA strand scission of leaf, bark, and heartwood extracts from *Acacia catechu*. *J Food Sci* **76**, C959–64.
- Hashmat MA and Hussain, R (2013) A review on *Acacia catechu* Willd. *Interdiscip J Contemp Res Bus* **5**, 593–600.
- Jagadeeshwar Roa R, Tiwari AK, Kumar US, Reddy SV, Ali AZ, and Rao JM (2003) Novel 3-O-acyl mesquite analogues as free-Radical scavengers and enzyme inhibitors: synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship. *Bioorg Med Chem Lett* **13**, 2777–80.
- Jain R, Patni V, and Arora DK (2007) Isolation and identification of flavonoid “quercetin” from *Acacia catechu* (L.f.) Willd.- A Katha yielding plant. *J Phytol Res* **20**, 43–5.
- Jayasekhar P, Mohanan PV, and Rathinam K (1997) Hepatoprotective activity of ethyl acetate extract of *Acacia catechu*. *Indian J Pharmacol* **29**, 426–8.
- Kim JK, Kwon DJ, Lim SS, and Bae YS (2010) Chemical constituents of domestic *Quercus* spp. Barks. *J Korean Wood Sci Technol* **38**, 359–74.
- Kpegba K, Agbonon A, Petrovic AG, Amouzou E, Gbeassor M, Proni G et al. (2011) Epiafzelechin from the root bark of *Cassia sieberiana*: Detection by DART mass spectrometry, spectroscopic characterization, and antioxidant properties. *J Nat Prod* **74**, 455–9.
- Kwon DJ, Kim JK, and Bae YS (2011) DPPH radical scavenging activity of phenolic compounds isolated from the stem wood of *Acer tegmentosum*. *J Korean Wood Sci Technol* **39**, 104–12.
- Lakshmi T, Anitha Roy, and Geetha RV (2011) *Acacia catechu* willd -A gift from ayurveda to mankind - A Review. *T Ph Res* **5**, 273–93.
- Lakshmi T, Rajendran R, and Madhusudhanan N (2012) Chromatographic fingerprint analysis of *Acacia catechu* ethanolic leaf extract by HPTLC technique. *Int J Drug Dev Res* **4**, 180–5.
- Lee EH, Kim HJ, Song YS, Jin C, Lee KT, Cho J et al. (2003) Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Arch Pharm Res* **26**, 1018–23.
- Li X, Wang H, Liu C, and Chen R (2010) Chemical constituents of *Acacia catechu*. *China J Chin Mat Med* **35**, 1425–7.
- Li XC, Liu C, Yang LX, and Chen RY (2011) Phenolic compounds from the aqueous extract of *Acacia catechu*. *J Asian Nat Prod Res* **13**, 826–30.
- Liu X, Li W, Hua H, Li W, Chen F, and Wu L (2006) An NMR study of a phenyl propanoid-substituted catechin from *Polygonum bistorta*. *Asian J Tradit Med* **1**, 73–5.
- Monga J, Chauhan CS, and Sharma M (2011) Human epithelial carcinoma cytotoxicity and inhibition of DMBA/TPA induced squamous cell carcinoma in Balb/c mice by *Acacia catechu* heartwood. *J Pharm Pharmacol* **63**, 1470–82.
- Monu, Parle M, Kadian R, and Sharma K (2014) Phytopharmacology of *Acacia catechu* Willd: A review. *World J Pharm Pharm Sci* **3**, 1380–9.
- Nadumane KV and Nair S (2011) Evaluation of the anticancer and cytotoxic potentials of *Acacia catechu* extracts *in vitro*. *J Nat Pharma* **2**, 190–5.
- Nagaraja TG, Sarang SV, and Jambhale DC (2008) Evaluation of anti-mycotic activity of *Acacia catechu* Willd. (Mimosaceae) *J Biopest* **1**, 197–8.
- Nam KY and Lee JS (2010) Dyeability and functionality of Catechu (Part I) - Characteristics of Catechu and dyeing properties of cotton-. *Korean J Human Ecol* **19**, 699–707.
- Ray D, Sharatchandra KH, and Thokchom IS (2006) Antipyretic, antiarrhoeal, hypoglycaemic and hepatoprotective activities of ethyl acetate extract of *Acacia catechu* Willd. In albino rats. *Indian J Pharmacol* **38**, 408–13.
- Saijyo J, Suzuki Y, Okuno Y, Yamaki H, Suzuki T, and Miyazawa M (2008) α -Glucosidase Inhibitor from *Bergenia ligulata*. *J Oleo Sci* **57**, 431–5.
- Saraswathy A and Vidhya B (2012) (+)-Afzelechin from the rhizome of *Calamus rotang* Linn. *Indian drugs* **49**, 49–50.
- Selvaraj K, Chowdhury R, and Bhattacharjee C (2013) Isolation and structural elucidation of flavonoids from aquatic fern *Azolla microphylla* and evaluation of free radical scavenging activity. *Int J Pharm Sci* **5**, 743–9.
- Ulubelen A, Tan N, and Tuzlaci E (1990) Constituents of *Daphne mucronata*. *Fitoterapia* **61**, 281.
- Velázquez C, Correa-Basurto J, Garcia-Hernandez N, Barbosa E, Tesoro-Cruz E, Calzada S et al. (2012) Anti-diarrheal activity of (–)-epicatechin from *Chiranthodendron pentadactylon* L'herit: Experimental and computational studies. *J Ethnopharmacol* **143**, 716–9.
- Wang L, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Blunder M, Liu X, Malainer C et al. (2014) Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ): a review. *Biochem Pharmacol* **92**, 73–89.
- Wong KC, Law MC, Wong MS, and Chan TH (2014) Development of a UPLC-MS/MS bioanalytical method for the pharmacokinetic study of (–)-epiafzelechin, a flavan-3-ol with osteoprotective activity, in C57BL/6J mice. *J Chromatogr B* **967**, 162–7.
- Yadava RN and Sodhi S (2002) A new flavone glycoside: 5,7,3',4'-tetrahydroxy-3-methoxy flavone-7-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glucopyranoside from the stem of *Acacia catechu* Willd. *J Asian Nat Prod Res* **4**, 11–5.