

## 자소엽(*Perillae Folium*) 열수추출물의 식물화학성분 연구

길현우 · 노태웅 · 윤기동\*

가톨릭대학교 약학대학

### Phytochemical Study of Hot-Water Extract of *Perillae Folium*

Hyun Woo Kil, Taewoong Rho, and Kee Dong Yoon\*

College of Pharmacy, The Catholic University of Korea, Bucheon 14662, Korea

**Abstract** – In this study, 15 compounds were elucidated from the hot-water extract of *Perillae Folium*. Fifteen isolates were determined to be protocatechuic acid (1), caffeic acid (2), (*R*)-rosmarinic acid (3), (*S*)-shisoflavanone A (4), luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (5), scutellarein-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (6), apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (7), luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (8), kelampayoside A (9), *trans-N*-feruloyloctopamine (10), 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-*N*-[2-(4-hydroxyphenyl)-2-methoxyethyl]acrylamide (11), perilloside C (12), perilloside A (13), (6*S*,9*R*)-9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (14) and (6*S*,9*R*)-roseoside (15) through spectroscopic evidences. The HPLC analysis revealed that hot-water extract of *Perillae Folium* contained caffeic acid, rosmarinic acid and glycosides of apigenin, luteolin and scutellarein as main constituents.

**Keywords** – *Perillae Folium*, Hot-water extract, Phenolic compounds, Norisoprenoids

자소엽(*Perillae Folium*)은 전통적으로 사용하는 생약으로써 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 차즈기(*Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo) 또는 주름소엽(*Perilla frutescens* Britton var. *crispa* Decaisne)의 잎 및 끝 가지이다. 대한민국약전과 일본약전에서는 차즈기 또는 주름소엽을 자소엽이라고 규정하지만, 중국약전에서는 차즈기만을 자소엽으로 규정하고 있다.<sup>1,2)</sup> 이 식물들의 주요 분포지역은 일본, 한국, 베트남, 중국 및 아시아 지역이며, 각국 현지에서는 주로 기침, 구토, 만성 기관지염 등을 치료하기 위하여 사용되어 왔다.<sup>1,3)</sup> 자소엽의 주성분으로는 phenolic acid,<sup>1,4)</sup> flavonoids,<sup>1,4)</sup> volatile compounds,<sup>1,5)</sup> triterpenoids,<sup>1,4)</sup> fatty acids<sup>6)</sup> 및 phytosterols<sup>1,7)</sup> 등이 보고되어 있으며, 자소엽에서 분리된 rosmarinic acid에는 사구체신염 억제, 항산화 효과 및  $\beta$ -secretase 억제효과가 보고되어 있고,<sup>1,8)</sup> apigenin의 항우울 효과가 보고되었다.<sup>9)</sup> 그 외에도 항알러지 효과,<sup>10)</sup> 항염증 효과,<sup>11)</sup> 항암 효과,<sup>12)</sup> 항균 효과<sup>13)</sup> 등 다양한 생리활성에 대한 연구가 보고되었다. 기존 문헌에서는 자소엽의 품질평가를 위한 지표성분으로 rosmarinic acid, elemicin, perillaldehyde,

dillapiole이 제시되었는데, 74개의 자소엽 샘플을 정량분석한 실험에서 함량의 편차가 가장 작고 모든 샘플에서 검출된 rosmarinic acid가 지표성분으로써 적절할 것으로 판단하였다.<sup>14)</sup>

본 연구에서는 자소엽 열수추출물에 함유된 주요 성분들을 분리하고 구조를 규명하였으며, HPLC 분석을 통해 자소엽의 성분패턴을 확인하였다. 이를 통하여 자소엽의 기초적인 성분자료와 품질평가에 대한 근거를 마련하고자 한다.

#### 재료 및 방법

**기기 및 시약** – <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)과 <sup>13</sup>C-NMR(125 MHz) 스펙트럼은 AVANCE 500 spectrometer(Bruker, Karlsruhe, Germany)를 사용하였고, 질량분석기는 6530 Q-TOF-ESI-MS spectrometer(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. 분석용 HPLC는 2695 separation module 및 996 photodiode array detector가 구비된 Waters 사(Milford, MA, USA)의 Alliacne HPLC system을 사용하였으며, HPLC-PDA에 사용된 분석용 컬럼은 Luna C18 (4.6 $\times$ 250 mm I.D., 5  $\mu$ m; Phenomenex, Torrance, CA, USA)이며 HPLC-MS를 위해서 Luna<sup>®</sup> 3  $\mu$ m C18(2) 컬럼

\*교신저자(E-mail): kdyoon@catholic.ac.kr  
(Tel): +82-2-2164-4091

(4.6×250 mm I.D., 5 µm; Phenomenex, Torrance, CA, USA)을 사용하였다. 분취용 HPLC는 두 개의 321 pump와 155 UV/VIS detector가 구비된 Gilson HPLC system (middleton, WI, USA)을 사용하였고, 분취용 컬럼은 Luna C18(2)(21.2×250 mm I.D., 5 µm; Phenomenex, Torrance, CA, USA)를 사용하였다. 증압액체크로마토그래피 (MPLC) 컬럼에 사용한 충전제는 Silica gel 60(40-63 µm, 230-400 mesh; Merck, Kenilworth, NJ, USA), ZEOprep 90 C18 (40-63 µm; Zeochem, Uetikon, Switzerland), Sephadex LH-20(Ge healthcare, Uppsala, Sweden)를 사용하였다. 탈이온수는 Milli-Q water purification system(Merck Millipore, Billerica, MA, USA)를 이용하여 제조하였으며, 선광도와 원평광이색성(CD) 측정은 Jasco(Tokyo, Japan)사의 P-2000 polarimeter(Jasco, Tokyo, Japan)와 J-815 CD spectrometer로 측정하였다. 컬럼크로마토그래피 및 HPLC 분석에 사용한 용매는 대정화학(대한민국)에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 자소엽 열수추출물은 (주)헬릭스미스에서 제공받았다. 기원식물인 자소엽은 휴먼허브에서 구입하였으며 DNA 중분석을 통하여 *Perilla frutescens*로 확인하였으며 표본은 (주)헬릭스미스에 보관하였다(# HX-W-190116-4).

**추출** - 건조된 자소엽에 12배수의 증류수를 가해 90°C의 온도에서 3시간 동안 환류추출하였다. 추출 후 추출용액을 여과한 뒤 50-65°C에서 감압농축하여 연조엑스(고형분 50%)를 수득하였고, 이의 수율은 약 10.40%(고형분 100% 기준)이었다.

**HPLC-PDA, HPLC-MS 조건** - HPLC-PDA 분석에 사용된 이동상 용매는 H<sub>2</sub>O(0.01% TFA, A) 및 MeCN(0.01% TFA, B)의 혼합액을 이용하여 용출시켰다. 용매의 농도구배는 0-5분(95% A), 5-20분(95→85% A), 20-50분(85→30% A)이었으며, 유속은 1.0 ml/min이었고, 검출은 254 및 365 nm의 파장에서 수행하였다. 추출물 및 분리된 성분은 50% 메탄올 용액에 녹여 분석하였으며 추출물의 경우 10 mg/ml 농도로, 분리성분의 경우 100 µg/ml 농도로 20 µl를 주입하여 측정하였다. 분리된 성분의 분자량 확인을 위한 HPLC-ESI-Q-TOF-MS에서 사용된 이동상 용매는 H<sub>2</sub>O(0.1% formic acid, A) 및 MeCN(0.1% formic acid, B)의 혼합액을 사용하였고 이동상의 농도구배는 0-5분(95% A), 5-15분(95→0% A), 15-18분(0% A)이며 유속은 0.5 ml/min이었다. 분리된 성분은 100 µg/ml 농도로 5 µl를 주입하였고 splitter를 사용하여 컬럼에서 나온 용출액의 10%가 MS 기기에 도입되도록 조절하였다.

**분리 및 정제** - 자소엽 열수추출물 47 g을 100 g의 실리카겔에 흡착시켰으며 고체상추출법(solid phase extraction)을 수행하기 위해 흡착물을 MPLC 컬럼에 충전한 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(8:5:1, v/v/v) 혼합액으로 용출시켜 주요 분획(17.9 g)을 확보하였다. 이를 다시 실리카겔이 충전된 증

압액체크로마토그래피를 통하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(12:5:1→8:5:1, v/v/v)→CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(8:5:1, v/v/v) 혼합액 순서로 용출시켜 총 25개의 소분획(Fr. 1-25)으로 나누었다. 소분획 Fr. 1(44.0 mg)에서 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(33:67, v/v), 5.0 ml/min]를 통해 화합물 **4**(5.5 mg)를 분리하였다. 소분획 Fr. 5(360.1 mg)는 메탄올을 용출용매로 하는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 소분획(Fr. 5.1-5.4)으로 나누었으며, 그 중 Fr. 5.1을 RP-MPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(10:90→60:40, v/v), 10.0 ml/min]을 실시하여 다시 3개의 소분획(Fr. 5.1.1-5.1.3)으로 나누었다. 그리고 Fr. 5.1.1을 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(20:80, v/v), 5.0 ml/min]를 실시하여 화합물 **14**(3.0 mg)를 분리하였고, Fr. 5.1.2를 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(30:70, v/v), 5.0 ml/min]를 실시하여 화합물 **12**(3.4 mg), **13**(9.2 mg)을 분리하였다. 그리고 Fr. 5.3을 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(28:72, v/v), 5.0 ml/min]를 실시하여 화합물 **10**, **11**의 혼합물 3.5 mg을 분리하였다. Fr. 7(299.0 mg)은 메탄올을 용출용매로 하는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 소분획(Fr. 7.1-7.4)으로 나누었으며, 그 중 Fr. 7.1 분획을 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(15:85, v/v), 5.0 ml/min]를 실시하여 화합물 **15**(7.2 mg)을 분리하였다. Fr. 8(876.2 mg)은 메탄올을 용출용매로 하는 Sephadex LH-20 컬럼크로마토그래피를 실시하여 6개의 소분획(Fr. 8.1-8.6)으로 나누었으며, 그 중 Fr. 8.2를 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(15:85, v/v), 5.0 ml/min]를 실시하여 화합물 **9**(3.1 mg)를 분리하였고, Fr. 8.5를 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(26:74, v/v), 5.0 ml/min]를 실시하여 화합물 **1**(4.5 mg), **2**(10.1 mg)를 분리하였다. Fr. 9(922.8 mg)를 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(25:75, v/v), 5.0 ml/min]를 이용하여 화합물 **3**(9.4 mg)을 분리하였다. Fr. 12(3249.1 mg)에서는 RP-MPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(5:95→70:30, v/v)→MeOH]를 이용해 3개의 분획(Fr. 12.1-12.3)으로 나누었으며, Fr. 12.3을 RP-MPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(15:85→70:30, v/v), 8.0 ml/min]를 수행한 후 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(22:78, v/v), 5.0 ml/min]로 정제하여 <sup>1</sup>H-NMR 상에서 화합물 **5**, **6**이 1:0.8 비율로 혼합된 피크(10.5 mg)를 분리하였다. Fr. 21(331.6 mg)은 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(17:83, v/v), 5.0 ml/min]를 통해 화합물 **7**(6.0 mg)을 분리하였다. Fr. 25(696.3 mg)를 RP-MPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(10:90→20:80→40:60, v/v)→MeOH]를 실시한 후 RP-HPLC[MeCN-H<sub>2</sub>O(10:90→36:64, v/v), 5.0 ml/min]로 정제하여 <sup>1</sup>H-NMR 상에서 화합물 **8**과 **8\***이 1:0.2 비율로 혼합된 피크를 분리하였다.

Protocatechuic acid (**1**): amorphous powder; C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>; ESI-Q-TOF-MS: *m/z* 153.0188 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.43 (1H, brs, H-2), 7.41 (1H, o, H-6), 6.79 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5) (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 170.47 (C-7), 151.66 (C-4),

146.22 (C-3), 124.04 (C-6), 117.87 (C-2), 115.88 (C-5)

Caffeic acid (**2**): amorphous powder;  $C_9H_8O_4$ ; ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  179.0344 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.53 (1H, dd,  $J=15.8$  Hz, H-7), 7.03 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-2), 6.93 (1H, dd,  $J=8.2, 2.1$  Hz, H-6), 6.78 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H-5), 6.22 (1H, dd,  $J=15.8$  Hz, H-8); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  171.20 (C-9), 149.60 (C-4), 147.18 (C-3), 146.95 (C-7), 127.94 (C-1), 123.00 (C-6), 116.20 (C-5), 115.69 (C-8), 115.21 (C-2).

(R)-Rosmarinic acid (**3**): pale yellow powder;  $C_{18}H_{16}O_8$ ;  $[\alpha]_D^{25} +97.20$  ( $c$  0.1, CH<sub>3</sub>OH); ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  359.0767 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.55 (1H, d,  $J=15.9$  Hz, H-7'), 7.04 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-2'), 6.95 (1H, dd,  $J=8.2, 2.1$  Hz, H-6'), 6.78 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H-5'), 6.75 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-2), 6.70 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5), 6.61 (1H, dd,  $J=8.0, 2.1$  Hz, H-6), 6.27 (1H, d,  $J=15.9$  Hz, H-8'), 5.18 (1H, dd,  $J=8.4, 4.3$  Hz, H-8), 3.10 (1H, dd,  $J=14.3, 4.3$  Hz, H-7a), 3.01 (1H, dd,  $J=14.3, 8.4$  Hz, H-7b); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  173.63 (C-9), 168.59 (C-9'), 149.90 (C-4), 147.88 (C-3), 146.97 (C-7'), 146.31 (C-3'), 145.43 (C-4'), 129.39 (C-1), 127.97 (C-1'), 123.31 (C-6), 121.93 (C-6'), 117.71 (C-2'), 116.63 (C-5), 116.43 (C-5'), 115.34 (C-8'), 114.54 (C-2), 74.74 (C-8), 38.05 (C-7).

(S)-Shisoflavanone A (**4**): pale yellow powder;  $C_{17}H_{16}O_5$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -274.40$  ( $c$  0.1, CH<sub>3</sub>OH); ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  323.0895 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.38-7.45 (5H, o, H-2', 3', 4', 5', 6'), 6.16 (1H, s, H-5), 5.44 (1H, dd,  $J=12.8, 2.9$  Hz, H-2), 3.96 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.07 (1H, dd,  $J=16.6, 12.8$  Hz, H-3a), 2.83 (1H, dd,  $J=16.6, 2.9$  Hz, H-3b) (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  189.89 (C-4), 155.29 (C-6), 152.89 (C-7), 149.66 (C-8), 138.51 (C-1'), 129.15 (C-4'), 129.10 (C-3', 5'), 127.88 (C-9), 126.54 (C-2', 6'), 105.96 (C-10), 89.87 (C-5), 80.21 (C-2), 56.51 (6-OCH<sub>3</sub>), 56.46 (7-OCH<sub>3</sub>), 45.97 (C-3).

Luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**5**): pale yellow powder;  $C_{21}H_{17}O_{11}$ ; ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  461.0724 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  13.01 (1H, s, 5-OH), 10.04 (1H, s, 4'-OH), 9.44 (1H, s, 3'-OH), 7.45 (1H, dd,  $J=8.3, 2.3$  Hz, H-6'), 7.43 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H-2'), 6.91 (1H, d,  $J=8.3$  Hz, H-5'), 6.82 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-8), 6.76 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-6), 5.29 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1'''), 4.05 (1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-5'''), 3.30-3.42 (3H, m, H-2'', 3'', 4''); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO):  $\delta$  181.91 (C-4), 170.07 (C-6''), 164.52 (C-2), 162.49 (C-7),

161.22 (C-5), 156.97 (C-9), 149.95 (C-4'), 145.80 (C-3'), 121.37 (C-1'), 119.19 (C-6'), 115.99 (C-5'), 113.57 (C-2'), 105.47 (C-10), 103.20 (C-3), 99.39 (C-6), 99.14 (C-1''), 94.54 (C-8), 75.60 (C-3'''), 75.40 (C-5'''), 72.78 (C-2''), 71.24 (C-4'').

Scutellarein-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**6**): pale yellow powder;  $C_{21}H_{17}O_{11}$ ; ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  461.0724 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  12.75 (1H, s, 5-OH), 8.62 (1H, s, 6-OH), 7.93 (2H, d,  $J=8.5$  Hz, H-2', 6'), 6.99 (1H, s, H-8), 6.94 (2H, d,  $J=8.5$  Hz, H-3', 5'), 6.83 (1H, s, H-3), 5.23 (1H, d,  $J=7.4$  Hz, H-1'''), 4.05 (1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-5'''), 3.30-3.42 (3H, m, H-2'', 3'', 4''); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO):  $\delta$  182.36 (C-4), 170.08 (C-6''), 164.12 (C-2), 161.20 (C-4'), 150.99 (C-7), 149.01 (C-9), 146.86 (C-5), 130.46 (C-6), 128.45 (C-2', 6'), 121.3 (C-1'), 115.99 (C-3', 5'), 105.86 (C-10), 102.54 (C-3), 99.95 (C-1''), 93.58 (C-8), 75.51 (C-3'''), 75.23 (C-5'''), 72.78 (C-2''), 71.32 (C-4'').

Apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**7**): pale yellow powder;  $C_{27}H_{26}O_{17}$ ; ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  623.1249 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  12.98 (1H, s, 5-OH), 10.45 (1H, s, 4'-OH), 7.95 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.94 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.77 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-8), 6.42 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H-6), 5.39 (1H, d,  $J=6.7$  Hz, H-1'''), 4.55 (1H, d,  $J=7.9$  Hz, H-1'''), 4.05 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-5'''), 3.65 (1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-5'''), 3.02-3.53 (6H, o, H-2''-4'', H-2'''-4''') (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO):  $\delta$  182.07 (C-4), 170.36 (C-6'', 6'''), 164.28 (C-2), 162.30 (C-7), 161.36 (C-4'), 161.19 (C-5), 156.87 (C-9), 128.62 (C-2', 6'), 121.07 (C-1'), 116.00 (C-3', 5'), 105.46 (C-10), 104.41 (C-1'''), 103.11 (C-3), 99.24 (C-6), 97.64 (C-1''), 94.81 (C-8), 82.40 (C-2''), 75.78 (C-5'''), 75.61 (C-3'''), 75.01 (C-3'''), 74.90 (C-5''), 74.17 (C-2''), 71.66 (C-4'''), 70.88 (C-4'').

Luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**8**): pale yellow powder;  $C_{27}H_{26}O_{18}$ ; ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  637.1041 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  13.0 (1H, s, 5-OH), 9.43 (1H, s, 3'-OH), 7.45 (1H, dd,  $J=8.3, 2.3$  Hz, H-6'), 7.42 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H-2'), 6.91 (1H, d,  $J=8.3$  Hz, H-5'), 6.75 (1H, s, H-3), 6.73 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-8), 6.41 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-6), 5.45 (1H, d,  $J=6.9$  Hz, H-1'''), 4.55 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1'''), 4.11 (1H, d,  $J=9.6$  Hz, H-5'''), 3.64 (1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-5'''), 3.02-3.53 (6H, o, H-2''-4'', H-2'''-4''') (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO):  $\delta$  181.97

(C-4), 170.23 (C-6<sup>m</sup>), 169.85 (C-6<sup>n</sup>), 164.49 (C-2), 162.15 (C-7), 161.22 (C-5), 156.93 (C-9), 149.90 (C-4'), 145.78 (C-3'), 121.47 (C-1'), 119.17 (C-6'), 115.99 (C-5'), 113.59 (C-2'), 105.49 (C-10), 104.34 (C-1<sup>m</sup>), 103.20 (C-3), 99.21 (C-6), 97.45 (C-1<sup>n</sup>), 94.49 (C-8), 82.35 (C-2<sup>n</sup>), 75.80 (C-5<sup>n</sup>), 75.58 (C-5<sup>m</sup>), 75.06 (C-3<sup>m</sup>), 74.86 (C-3<sup>n</sup>), 74.13 (C-2<sup>m</sup>), 71.65 (C-4<sup>m</sup>), 70.74 (C-4<sup>n</sup>).

Scutellarein di-glucuronic acid (**8**\*) C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>18</sub>; ESI-Q-TOF-MS: *m/z*: 637.1041 [M-H]<sup>-</sup>. (calcd for C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>O<sub>18</sub>: 637.1041); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 500 MHz) δ 12.71 (1H, s, 5-OH), 7.94 (2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2', H-6'), 6.96 (1H, s, H-8), 6.95 (1H, d, *J*=8.7 Hz, H-5'), 6.95 (1H, d, *J*=8.7 Hz, H-3'), 6.81 (1H, s, H-3); <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 125 MHz) δ 182.47 (C-4), 163.93 (C-2), 161.15 (C-4'), 150.24 (C-7), 148.96 (C-9), 146.85 (C-5), 130.54 (C-6), 128.4 (C-2', C-6'), 121.4 (C-1'), 116.03 (C-3', C-5'), 105.98 (C-10), 104.42 (C-3), 93.17 (C-8), \* 당부분에 해당하는 부분은 화합물 **8**과 중첩되어 비당체 부분만 기재함.

Kelampayoside A (**9**): colorless gum; C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>13</sub>; ESI-Q-TOF-MS: *m/z* 501.1584 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 6.49 (2H, brs, H-2, 6), 4.99 (1H, d, *J*=2.6 Hz, H-1<sup>n</sup>), 4.83 (1H, d, *J*=7.4 Hz, H-1'), 4.07 (1H, m, H-6'a), 3.98 (1H, d, *J*=9.7 Hz, H-4<sup>n</sup>a), 3.91 (1H, d, *J*=2.7 Hz, H-2<sup>n</sup>), 3.85 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.77 (1H, d, *J*=9.6 Hz, H-4<sup>m</sup>b), 3.73 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.62 (1H, m, H-6'b), 3.57 (2H, d, *J*=1.4 Hz, 5<sup>n</sup>-CH<sub>2</sub>), 3.31-3.61 (4H, o, H-2', 3', 4', 5') (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 156.11 (C-1), 154.96 (C-3, 5), 134.75 (C-4), 111.00 (C-1<sup>n</sup>), 103.33 (C-1'), 96.47 (C-2, 6), 80.63 (C-3<sup>n</sup>), 78.08 (C-2<sup>n</sup>), 78.01 (C-3'), 77.16 (C-5'), 75.06 (C-4'), 75.03 (C-2'), 71.74 (C-4'), 68.90 (C-6'), 65.50 (C-5<sup>n</sup>), 61.38 (4-OCH<sub>3</sub>), 56.85 (3, 5-OCH<sub>3</sub>).

*trans*-*N*-Feruloyloctopamine (**10**): amorphous powder; C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>; ESI-Q-TOF-MS: *m/z* 352.1159 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.44 (1H, d, *J*=15.7 Hz, H-7), 7.22 (2H, d, *J*=8.6 Hz, H-2', 6'), 7.13 (1H, o, H-2), 7.03 (1H, dd, *J*=8.1, 1.9 Hz, H-6), 6.76-6.81 (3H, o, H-5, 3', 5'), 6.47 (1H, d, *J*=15.7 Hz, H-8), 4.72 (1H, dd, *J*=7.9, 4.9 Hz, H-7'), 3.89 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.53 (1H, dd, *J*=7.9, 4.9 Hz, H-8'a), 3.44 (1H, m, H-8'b) (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 169.65 (C-9), 158.27 (C-4'), 150.03 (C-4), 149.45 (C-3), 142.40 (C-7), 134.88 (C-1'), 128.62 (C-2', 6'), 128.42 (C-1), 123.44 (C-6), 118.79 (C-8), 116.60 (C-5), 116.26 (C-3', 5'), 111.67 (C-2), 73.59 (C-7'), 56.52 (3-OCH<sub>3</sub>), 48.47 (C-8').

3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-*N*-[2-(4-hydroxyphenyl)-2-methoxyethyl]acrylamide (**11**): amorphous powder; C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub>; ESI-Q-TOF-MS: *m/z* 366.1316 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.44 (1H, d, *J*=15.7 Hz, H-7), 7.17 (2H, d, *J*=8.6 Hz, H-2', 6'), 7.13 (1H, o, H-2), 7.03 (1H, dd, *J*=8.1, 1.9 Hz, H-6), 6.76-6.81 (3H, o, H-5, 3', 5'), 6.48 (1H, d, *J*=15.7 Hz, H-8), 4.25 (1H, dd, *J*=8.4, 4.6 Hz, H-7'), 3.89 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.51 (1H, dd, *J*=8.0, 5.0 Hz, H-8'a), 3.42 (1H, m, H-8'b), 3.21 (3H, s, 7'-OCH<sub>3</sub>) (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 169.37 (C-9), 158.71 (C-4'), 150.03 (C-4), 149.45 (C-3), 142.39 (C-7), 131.59 (C-1'), 129.36 (C-2', 6'), 128.43 (C-1), 123.44 (C-6), 118.79 (C-8), 116.60 (C-5), 116.47 (C-3', 5'), 111.65 (C-2), 83.43 (C-7'), 56.94 (7'-OCH<sub>3</sub>), 56.52 (3-OCH<sub>3</sub>), 47.21 (C-8').

Perilloside C (**12**): colorless gum; C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>; ESI-Q-TOF-MS: *m/z* 339.1783 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 4.66 (2H, m, 9-CH<sub>2</sub>), 4.23 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-1'), 3.86 (1H, dd, *J*=11.3, 2.1 Hz, H-6'a), 3.73 (1H, dd, *J*=9.5, 6.5 Hz, H-7b), 3.66 (1H, dd, *J*=11.3, 5.3 Hz, H-6'b), 3.35 (1H, m, H-7a), 3.17-3.34 (4H, o, H-2', 3', 4', 5'), 1.90 (2H, m, H-2a, 6a), 1.86 (1H, m, H-4), 1.78 (2H, m, H-3a, 5a), 1.71 (3H, s, 10-CH<sub>3</sub>), 1.61 (1H, m, H-1), 1.24 (2H, o, H-3b, 5b), 1.03 (2H, m, H-2b, 6b) (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 152.05 (C-8), 108.8 (C-9), 104.76 (C-1'), 78.30 (C-3'), 78.06 (C-5'), 76.60 (C-7), 75.34 (C-2'), 71.84 (C-4'), 62.93 (C-6'), 47.10 (C-4), 39.43 (C-1), 32.63 (C-5), 32.62 (C-3), 31.22 (C-2), 31.18 (C-6), 21.22 (C-10).

Perilloside A (**13**): colorless gum; C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -32.20 (c 0.1, CH<sub>3</sub>OH); ESI-Q-TOF-MS: *m/z* 337.1631 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 5.76 (1H, brs, H-2), 4.71 (2H, brs, 9-CH<sub>2</sub>), 4.26 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-1'), 4.22 (1H, d, *J*=11.6 Hz, H-7a), 4.03 (1H, d, *J*=11.6 Hz, H-7b), 3.86 (1H, dd, *J*=11.9, 2.2 Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd, *J*=11.9, 5.7 Hz, H-6'b), 3.19-3.34 (4H, o, H-2', 3', 4', 5'), 2.16 (3H, o, H-4, 6-CH<sub>2</sub>), 2.14 (1H, m, H-3a), 1.97 (1H, m, H-3b), 1.84 (1H, m, H-5a), 1.74 (3H, s, 10-CH<sub>3</sub>), 1.49 (1H, m, H-5b) (o: peak overlapped); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 151.15 (C-8), 135.67 (C-1), 126.15 (C-2), 109.33 (C-9), 103.07 (C-1'), 78.28 (C-3'), 78.05 (C-5'), 75.24 (C-2'), 74.55 (C-7), 71.85 (C-4'), 62.93 (C-6'), 42.60 (C-4), 31.81 (C-3), 28.90 (C-5), 27.61 (C-6), 21.07 (C-10).

(6*S*,9*R*)-9-Hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-*O*-β-D-glucopyranoside (**14**): colorless gum; C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub>; ESI-Q-

TOF-MS:  $m/z$  393.1887  $[M+Na]^+$ ; CD (mdeg): +10.23 (244.3 nm), -0.32 (318.1 nm);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  5.88 (1H, s, H-4), 5.78 (1H, dd,  $J=15.4$ , 6.5 Hz, H-8), 5.65 (1H, dd,  $J=15.4$ , 9.2 Hz, H-7), 4.40 (1H, m, H-9), 4.35 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1'), 3.82 (1H, dd,  $J=11.9$ , 2.3 Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd,  $J=11.9$ , 5.4 Hz, H-6'b), 3.17-3.34 (4H, o, H-2', 3', 4', 5'), 2.68 (1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-6), 2.44 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-2a), 2.04 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-2b), 1.94 (3H, d,  $J=1.4$  Hz, 13- $CH_3$ ), 1.28 (3H, s, 10- $CH_3$ ), 1.03 (3H, s, 12- $CH_3$ ), 1.01 (3H, s, 11- $CH_3$ ) (o: peak overlapped);  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  202.22 (C-3), 166.07 (C-5), 138.38 (C-8), 128.99 (C-7), 126.27 (C-4), 102.6 (C-1'), 78.25 (C-3'), 78.14 (C-5'), 77.13 (C-9), 75.41 (C-2'), 71.65 (C-4'), 62.82 (C-6'), 56.92 (C-6), 48.42 (C-2), 37.27 (C-1), 28.19 (C-12), 27.75 (C-11), 23.91 (C-13), 21.18 (C-10).

(6*S*,9*R*)-Roseoside (**15**): colorless gum;  $C_{19}H_{30}O_8$ ; ESI-Q-TOF-MS:  $m/z$  409.1845  $[M+Na]^+$ ; CD (mdeg): +9.40 (240.3 nm), -0.55 (322.6 nm);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  5.87 (2H, o, H-7, 8), 5.86 (1H, s, H-4), 4.42 (1H, m, H-9), 4.34 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1'), 3.85 (1H, dd,  $J=11.6$ , 2.0 Hz, H-6'a), 3.62 (1H, dd,  $J=11.6$ , 5.4 Hz, H-6'b), 3.17-3.35 (4H, o, H-2', 3', 4', 5'), 2.52 (1H, d,  $J=16.9$  Hz, H-2a), 2.15 (1H, d,  $J=16.9$  Hz, H-2b), 1.92 (3H, d,  $J=1.4$  Hz, 13- $CH_3$ ), 1.29 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, 10- $CH_3$ ), 1.04 (3H, s, 11- $CH_3$ ), 1.03 (3H, s, 12- $CH_3$ ) (o: peak overlapped);  $^{13}C$ -NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  201.35 (C-3), 167.41 (C-4), 135.44 (C-8), 131.69 (C-7), 127.33 (C-5), 102.89 (C-1'), 80.15 (C-6), 78.27 (C-3'), 78.19 (C-2'), 77.43 (C-9), 75.40 (C-4'), 71.81 (C-5'), 62.98 (C-6'), 50.85 (C-2), 42.58 (C-1), 24.83 (C-12), 23.57 (C-11), 21.33 (C-10), 19.70 (C-13).

## 결과 및 고찰

**분리성분의 구조규명** - 자소엽 열수추출물을 여러 단계의 크로마토그래피와 분광학적 기기분석법을 실시하여 총 15종의 화합물들을 규명하였다. 일부 성분들(**5**, **6**, **8**, **8\***, **10**, **11**)은 구조적 유사성으로 인해 분리용 HPLC 컬럼에서 혼합물로 분리되었지만,  $^1H$ -,  $^{13}C$ -NMR에서 각 성분들을 뚜렷이 구별할 수 있었으며 이를 Supporting Information에 따로 기재하였다.

화합물 **1**은 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  153.0188  $[M-H]^-$ 의 수치를 통해 이 화합물의 분자식이  $C_7H_6O_4$ 임을 확인하였다.  $^1H$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta_H$  6.79(1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5)와 중첩된 두 개의 신호( $\delta_H$  7.43(1H, br s, H-2), 7.41(1H, o,

H-6))를 통해 벤젠고리 1,3,4-치환체를 유추하였다. 또한  $^{13}C$ -NMR 스펙트럼에서 벤젠고리에 해당하는 6개의 탄소와 카복실기( $\delta_C$  170.47(C-7))에 해당하는 신호를 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 벤젠고리 1,3,4-치환체에 카복실기가 결합된 구조를 유추하였으며, 분석자료를 참고문헌과 비교하여 화합물 **1**의 구조를 protocatechuic acid로 규명하였다.<sup>15)</sup>

화합물 **2**는 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  179.0344  $[M-H]^-$ 의 수치를 통해 이 화합물의 분자식이  $C_9H_8O_4$ 임을 확인하였다.  $^1H$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta_H$  7.03(1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-2), 6.93(1H, dd,  $J=8.2$ , 2.1 Hz, H-6), 6.78(1H, d,  $J=8.2$  Hz, H-5)신호를 통해 벤젠고리 1,3,4-치환체를 확인하였으며, 짝지음 상수가 15.8 Hz인 한 쌍의 doublet( $\delta_H$  7.53, 6.22)신호를 통해 *trans* 형태의 이중결합을 확인하였다. 또한  $^{13}C$ -NMR 스펙트럼에서 카복실기( $\delta_C$  171.2(C-9))에 해당하는 신호를 확인하였다. 이러한 결과를 통해 화합물 **2**는 벤젠고리 1,3,4-치환체, 카복실기 및 *trans* 형태의 이중결합이 결합한 구조로 추정하였으며, 참고문헌과 비교하여 caffeic acid로 규명하였다.<sup>16)</sup>

화합물 **3**은 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  359.0767  $[M-H]^-$ 의 수치를 통해 분자식  $C_{19}H_{30}O_7$ 로 추정하였으며,  $^1H$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta_H$  7.04(1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-2'), 6.78(1H, d,  $J=8.2$  Hz, H-5'), 6.95(1H, dd,  $J=8.2$ , 2.1 Hz, H-6')를 통해 벤젠고리 1,3,4-치환체를 확인하였으며, 짝지음 상수가 15.9 Hz인 한 쌍의 doublet( $\delta_H$  7.55, 6.27)신호를 통해 *trans* form의 이중결합을 확인하여 caffeic acid 골격을 유추하였다. 그리고  $\delta_H$  6.75(1H, d,  $J=2.1$  Hz, H-2), 6.70(1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5), 6.61(1H, dd,  $J=8.0$ , 2.1 Hz, H-6)를 통해 또 다른 벤젠고리 1,3,4-치환체와 메틸기( $\delta_H$  5.18(1H, dd,  $J=8.4$ , 4.3 Hz, H-8)), 메틸렌기( $\delta_H$  3.10(1H, dd,  $J=14.3$ , 4.3 Hz, H-7a), 3.01(1H, dd,  $J=14.3$ , 8.4 Hz, H-7b))를 확인하여 벤젠고리의 1,3,4-치환체 1번에 lactic acid가 결합한 구조를 유추하였다.  $^{13}C$ -NMR스펙트럼에서 총 18개의 탄소를 확인하였으며 이를 참고문헌과 비교하여 rosmarinic acid 구조를 유추하였다.<sup>15)</sup> 8번 위치의 chiral center는 선광도를 측정하여 확인하였는데  $[\alpha]_D^{25} = +97.20$  수치를 통해 *R*-form으로 확인하였으며 따라서 화합물 **3**은 (*R*)-rosmarinic acid로 규명하였다.

화합물 **4**는 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  323.0895  $[M+Na]^+$ 의 수치를 통해 이 화합물의 분자식이  $C_{17}H_{16}O_5$ 임을 확인하였다.  $^1H$ -NMR 스펙트럼에서 5개분의 수소가 중첩된  $\delta_H$  7.38-7.45(5H, o, H-2', 3', 4', 5', 6')신호를 통해 방향족 수소 5개를 확인하였고, 메틸기( $\delta_H$  5.44(1H, dd,  $J=12.8$ , 2.9 Hz, H-2))와 메틸렌기( $\delta_H$  3.53(1H, dd,  $J=16.6$ , 12.8 Hz, H-3a), 2.83(1H, dd,  $J=16.6$ , 2.9 Hz, H-3b))를 확인하여 mono-substituted benzene ring을 포함하는 flavanone 골격을 유추하였다. 또한 singlet( $\delta_H$  6.16)에 해당하는 신호와 2개의 메

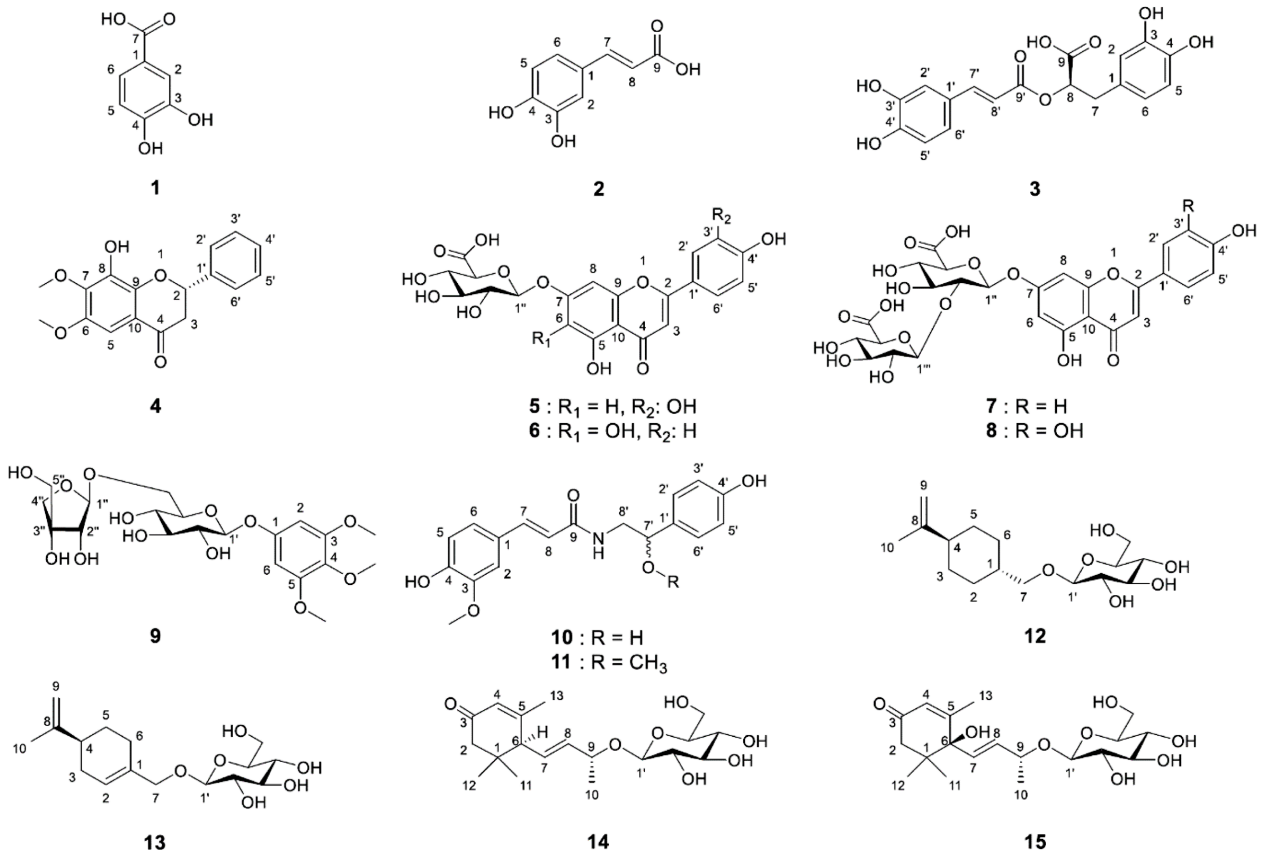


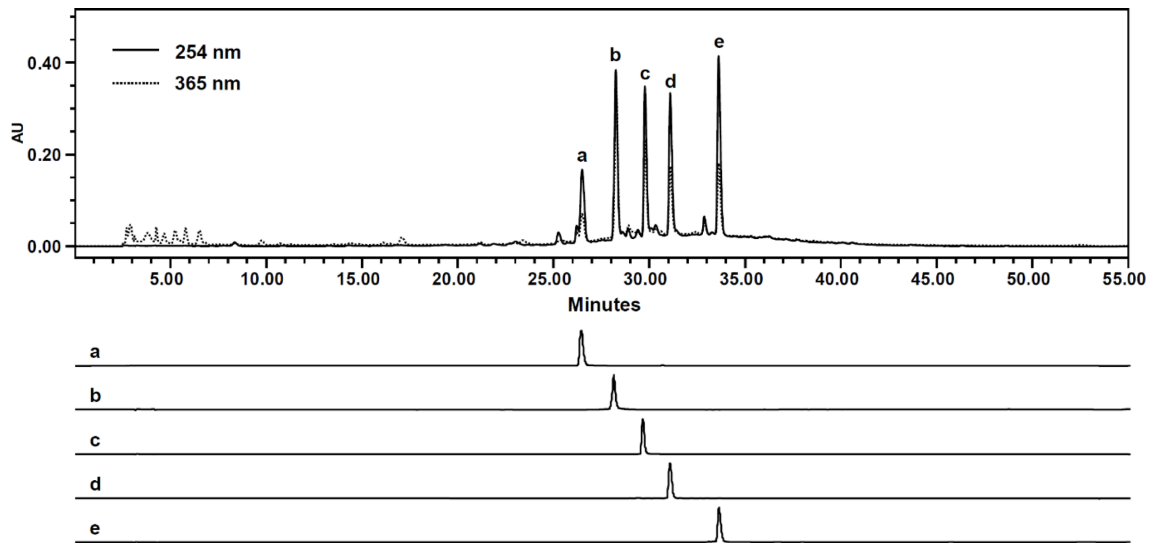
Fig. 1. Chemical structures of compounds 1–15 from hot-water extract of Perillae Folium.

특시기( $\delta_{\text{H}}$  3.96(3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.89(3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>)]를 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 총 15개의 신호를 확인하였으며, 그 중 2개분에 해당하는 탄소를 포함하여 flavanone 골격에 메톡시기 2개가 있는 구조로 유추하였다. HMBC 스펙트럼에서 H-5가 C-3, 7, 9에 correlation( $\delta_{\text{H}}$  6.16/ $\delta_{\text{C}}$  189.89, 152.89, 127.88)하는 것을 통해 C-5 위치에 수소를 확인하였고, 6-OCH<sub>3</sub>가 C-6에, 7-OCH<sub>3</sub>가 C-7에 correlation[( $\delta_{\text{H}}$  3.96/ $\delta_{\text{C}}$  155.29), ( $\delta_{\text{H}}$  3.89/ $\delta_{\text{C}}$  152.89)]하는 것을 통해 6, 7번 위치에 결합한 메톡시기를 확인하였다. 2번 위치의 chiral center는 선광도를 측정하여  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -274.40$  수치를 통해 S-form으로 확인하였으며 참고문헌과 비교해 본 결과 화합물 4는 (S)-shisoflavanone A로 규명하였다.<sup>17)</sup>

화합물 5, 6은 RP-HPLC상에서 용출시간이 같아 혼합물 상태로 분리되었다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 peak 면적비 (1:0.8)를 토대로 혼합물임을 확인할 수 있었고, 스펙트럼에서 두 개의 성분을 쉽게 구별할 수 있었다. ESI-Q-TOF-MS에서 *m/z* 461.0724 [M-H]의 단일 수치를 통해 이 두 화합물들의 분자식이 C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>O<sub>11</sub>로 일치함을 추정하였다. 화합물 5의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서  $\delta_{\text{H}}$  7.45(1H, dd, *J*=8.3, 2.3 Hz, H-6'), 7.43(1H, d, *J*=2.3 Hz, H-2'), 6.91(1H, d, *J*=8.3 Hz, H-5')신호를 통해 벤젠고리 1,3,4-치환체를 확인하였으며,

flavone H-3에서 특징적으로 나타나는 신호( $\delta_{\text{H}}$  6.76(1H, s, H-3)]를 확인하였다. 그리고 짝지음 상수가 2.2 Hz인 한 쌍의 doublet( $\delta_{\text{H}}$  6.82, 6.46)신호를 통해 벤젠고리 내 *meta*-coupling하는 수소를 확인하여 luteolin으로 유추하였다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  5.29(1H, d, *J*=7.2 Hz)에서 당의 anomeric proton을 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 총 21개의 신호를 확인하였고, 참고문헌과 비교해서 glucuronide에 해당하는 6 개의 탄소신호와 15개의 luteolin에 해당하는 탄소신호를 확인하였다. HMBC 스펙트럼을 통해 anomeric proton에 해당하는 신호가 luteolin의 C-7번 위치에 correlation( $\delta_{\text{H}}$  5.29/ $\delta_{\text{C}}$  99.14)하는 것을 확인하였으며 이를 참고문헌과 비교하여 화합물 5를 luteolin-7-O-β-D-glucuronopyranoside로 규명하였다.<sup>18)</sup>

작은 피크면적을 보이는 화합물 6의 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서  $\delta_{\text{H}}$  7.93(2H, d, *J*=8.5 Hz, H-2', 6'), 6.94(2H, d, *J*=8.5 Hz, H-3', 5')신호를 통해 벤젠고리 1,4-치환체를 확인하였으며,  $\delta_{\text{H}}$  6.83(1H, s, H-3)에서 flavone H-3위치 특징적으로 나타나는 신호를 확인하였다. 그리고  $\delta_{\text{H}}$  6.99(1H, s, H-8)에서 singlet 신호를 관찰하였고,  $\delta_{\text{H}}$  5.23(1H, d, *J*=7.4 Hz)에서 당의 anomeric proton을 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서도 총 16개의 신호를 확인하였고, 이는 glucuronide에 해당



**Fig. 2.** HPLC analysis of hot water extract of *Perillae Folium*. Peak a: caffeic acid (**2**); peak b: mixture of luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**8**) and scutellarein di-glucuronic acid (**8\***); peak c: apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**7**); peak d: mixture of luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**5**) and scutellarein-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside (**6**); peak e: rosmarinic acid (**3**).

하는 탄소신호 6개와 C-2', 6'과 C-3', 5'이 중첩되어 나타나는 flavonoids에 해당하는 13개 신호이다. HMBC 스펙트럼을 통해 H-8과 C-6, 7, 9, 10의 correlation peak( $\delta_{\text{H}}$  6.99/ $\delta_{\text{C}}$  99.39, 162.49, 156.97, 105.47)를 확인하여 C-8에 수소가 결합된 것을 확인하였고, 따라서 비당체로써 scutellarein 골격을 추정하였다. 그리고 anomeric proton에 해당하는 부분이 scutellarein C-7번 위치에 correlation( $\delta_{\text{H}}$  5.23/ $\delta_{\text{C}}$  99.95)하는 것을 확인하였으며, 참고문헌과 비교하여 화합물 **6**을 scutellarein-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside로 규명하였다.<sup>19)</sup>

화합물 **7**은 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  623.1249 [M+H]<sup>+</sup>의 수치를 통해 이 화합물의 분자식이 C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>17</sub>임을 확인하였다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 각각 두 개분에 해당하는 수소신호를  $\delta_{\text{H}}$  7.95(2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.94(2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-3' 5')에서 확인하여 벤젠고리 1,4-치환체를 확인하였으며, flavone H-3에서 특징적으로 나타나는 신호인  $\delta_{\text{H}}$  6.87(1H, s, H-3)를 확인하였다. 그리고 짝지음 상수가 2.2 Hz인 한 쌍의 doublet( $\delta_{\text{H}}$  6.77, 6.42)신호를 통해 벤젠고리내 meta-coupling하는 수소를 확인하여 apigenin 골격을 유추하였다. 또한 당의 anomeric proton에 해당하는 신호( $\delta_{\text{H}}$  5.39(1H, d,  $J=6.7$  Hz, H-1'')와 4.55(1H, d,  $J=7.9$  Hz, H-1''))를 통해 2개의 당이 있음을 추정하였다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 총 25개 신호를 확인하였고, apigenin에 해당하는 13개의 탄소와 2개의 glucuronide에 해당되는 12개의 탄소신호를 확인하였다. HMBC 스펙트럼에서 glucuronide H-1''가 apigenin C-7 위치에 결합된 것을 correlation peak( $\delta_{\text{H}}$  5.39/ $\delta_{\text{C}}$  162.30)를 통해 확인하였으며, apigenin과 결합한 glucuronide C-2'' 위치에 또 다른 glucuronide의 H-1'''이 결

합된 것을 correlation peak( $\delta_{\text{H}}$  4.55/ $\delta_{\text{C}}$  82.40)를 통해 확인하여, 참고문헌과 비교해 본 결과 화합물 **7**은 apigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside로 규명하였다.<sup>20)</sup>

화합물 **8**은 분취용 HPLC 상에서 하나의 피크로 분리되었으나 <sup>1</sup>H-NMR 상에서는 면적비 1:0.2의 비율로 또 다른 성분이 하나 혼합되어 있음을 확인하였으며 본 보고에서는 면적비가 상대적으로 큰 신호에 대하여 구조를 확정하였다. ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  637.1041 [M-H]<sup>-</sup>의 수치를 통해 이 화합물의 분자식이 C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>O<sub>18</sub>임을 확인하였으며, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 화합물 **7**에 해당하는 벤젠고리 1,4-치환체를 제외하고 유사함을 보였는데  $\delta_{\text{H}}$  7.45(1H, dd,  $J=8.3$ , 2.3 Hz, H-6'), 7.42(1H, d,  $J=2.3$  Hz, H-2'), 6.91(1H, d,  $J=8.3$  Hz, H-5')신호를 통해 벤젠고리 1,3,4-치환체를 확인하여 luteolin 골격을 유추하였고, 5.45(1H, d,  $J=6.9$  Hz, H-1''), 4.55(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1''')의 신호를 통해 당에 기인한 2개의 신호를 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 총 27개 신호를 확인하였고, luteolin에 해당하는 15개의 신호와 2개의 glucuronide에 해당되는 12개의 탄소신호를 확인하였다. 참고문헌과 비교해 화합물 **8**을 luteolin-7-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\beta$ -D-glucuronopyranoside로 규명하였다.<sup>21)</sup>

면적비가 작은 성분(**8\***)에 대해서는 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR을 분석하였을 때 scutellarein의 골격을 확인하였지만 당에 해당하는 피크는 **8**의 신호와 중첩되어 확인이 어려웠다. ESI-Q-TOF-MS에서 하나의 분자량에 해당하는 피크의 확인을 통해 화합물 **5**, **6**의 분리 결과와 같이 luteolin의 구조 이성질

체인 scutellarein에 두 개의 glucuronic acid가 결합된 scutellarein di-glucuronic acid로 여겨지며, 따라서 두 성분이 HPLC 상에서는 용출시간이 같아 서로 분리되지 않고 하나의 피크로 용출되었을 것이라 추정하였다. 본 보고에서는 **8\***의 비당체에 해당하는  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR의 수치만을 기재하였다.

화합물 **9**는 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  501.1584[M+Na] $^+$ 의 수치를 통해 이 화합물의 분자식이  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$ 임을 확인하였다.  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서 singlet( $\delta_{\text{H}}$  6.49)을 확인하였고, 3개의 메톡시기( $\delta_{\text{H}}$  3.85(6H, s, 3, 5-OCH $_3$ ), 3.73(3H, s, 4-OCH $_3$ ))를 확인하였다. 또한 당의 anomeric proton에 해당하는  $\delta_{\text{H}}$  4.83(1H, d,  $J=7.4$  Hz, H-1')와  $\delta_{\text{H}}$  4.99(1H, d,  $J=2.6$  Hz, H-1'')를 통해 2개의 당을 확인하였다.  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에서 총 17개의 신호를 확인하였으며, glucose와 apiose에 해당되는 11개의 탄소신호와 C-2, 6와 C-3, 5가 중첩되어 나타나는 벤젠고리 신호, 그리고 3,5-OCH $_3$ 와 4-OCH $_3$  신호를 확인하였다. HMBC 스펙트럼에서 메톡시기 3개가 벤젠고리 C-3,4,5에 결합하는 것을 correlation[( $\delta_{\text{H}}$  3.85/ $\delta_{\text{C}}$  154.96), ( $\delta_{\text{H}}$  3.71/ $\delta_{\text{C}}$  134.6)]을 통해 확인하였다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  4.83/ $\delta_{\text{C}}$  156.11 및  $\delta_{\text{H}}$  4.99/ $\delta_{\text{C}}$  68.90의 cross peak를 통해 glucose의 H-1'이 C-1에 결합하고 apiose의 H-1''이 C-6'에 결합하는 하는 것을 확인하여 3,4,5-trimethoxyphenol 1- $O$ - $\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside를 유추하였다. 참고 문헌과 비교해 본 결과 화합물 **9**는 kelampayoside A로 규명하였다.<sup>22)</sup>

화합물 **10**, **11**은 분리용 RP-HPLC상에서 용출시간이 같아 혼합물로 분리되었다.  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서 peak 면적비(1:1.1)를 토대로 혼합물임을 알 수 있었다. HPLC-ESI-Q-TOF-MS에서는 2개의 피크로 분리되었으며 각각  $m/z$  352.1159[M+Na] $^+$ ,  $m/z$  366.1316[M+Na] $^+$ 의 수치를 통해 이 혼합물에는 분자식이 각각  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ ,  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ 인 성분들이 있음을 확인하였다. 화합물 **10**은  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta_{\text{H}}$  7.13(1H, o, H-2), 7.03(1H, dd,  $J=8.1$ , 1.9 Hz, H-6), 6.76-6.81(1H, o, H-5)신호를 통해 벤젠고리 1,3,4-치환체를 확인하였고, 짝지음 상수가 15.7 Hz인 한 쌍의 doublet( $\delta_{\text{H}}$  7.44, 6.47)신호를 통해 *trans*-form의 이중결합을 확인하였다. 또한 HMBC 스펙트럼에서 3-OCH $_3$ 가 C-3에 correlation ( $\delta_{\text{H}}$  3.89/ $\delta_{\text{C}}$  149.45)하는 것을 확인하여 ferulic acid 구조를 유추하였다. 그리고  $\delta_{\text{H}}$  7.22(2H,  $J=8.6$  Hz, H-2', 6'), 6.76-6.81(2H, o, H-3', 5')신호로 벤젠고리 1,4-치환체를 확인하였고, 메틴기 [ $\delta_{\text{H}}$  4.72(1H, dd,  $J=7.9$ , 4.9 Hz, H-7')]와 메틸렌기 신호( $\delta_{\text{H}}$  3.53(1H, dd,  $J=7.9$ , 4.9 Hz, H-8'a), 3.44(1H, m, H-8'b))를 확인하여 octopamine골격을 유추하였다. HMBC 스펙트럼에서 H-8'a, H-8'b가 C-9와 correlation( $\delta_{\text{H}}$  3.53, 3.45/ $\delta_{\text{C}}$  169.65)하는 것을 통해 ferulic acid의 카복실기가 octopamine의 질소와 결합되어 있는 것을 확인하였고, 참고 문헌과 비교하여 화합물 **10**을 *trans*-*N*-feruloyloctopamine

으로 규명하였다.<sup>23)</sup>

화합물 **11**은  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에서 화합물 **10**와 유사하였다. ESI-Q-TOF-MS에서 분자식이  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ 인 걸로 보아 메톡시기가 추가된 것을 유추하였다. HMBC 스펙트럼에서 메톡시 신호가 C-7에 correlation( $\delta_{\text{H}}$  3.21/ $\delta_{\text{C}}$  142.39)하는 것을 확인하였고, 참고문헌과 비교하여 화합물 **11**은 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-*N*-[2-(4-hydroxyphenyl)-2-methoxyethyl]acrylamide로 규명하였다.<sup>24)</sup>

화합물 **12**는 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  339.1783[M+Na] $^+$ 의 수치를 통해 분자식이  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_6$ 임을 확인하였다.  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서 메틴기 신호( $\delta_{\text{H}}$  1.61(1H, m, H-1), 1.86(1H, m, H-4))와 메틸렌기 신호( $\delta_{\text{H}}$  1.03(2H, m, H-2b, 6b), 1.24(2H, m, 3b, 5b), 1.78(2H, m, H-3a, 5a), 1.90(2H, m, H-2a, 6a), 3.35(1H, m, 7a), 3.73(1H, dd,  $J=9.5$ , 6.5 Hz, H-7b))를 확인하였고,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 스펙트럼에서 H-1부터 H-7까지 연속적으로 correlation하는 것을 확인하여 1,4-치환된 cyclohexane 구조를 유추하였다. 그리고 1개의 메틸기  $\delta_{\text{H}}$  1.71(3H, s, H-10)와 이중결합의  $\delta_{\text{H}}$  4.66(2H, m, 9-CH $_2$ ) 그리고 당의 anomeric proton에 해당하는  $\delta_{\text{H}}$  4.23(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1')를 확인하였으며,  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에서 16개의 신호 중 glucose에 해당하는 6개의 탄소 신호와 환이 있는 모노테르펜 탄소 신호 10개를 확인하였다. HMBC 스펙트럼으로 H-9가 C-4, C-10과 correlation( $\delta_{\text{H}}$  4.66/ $\delta_{\text{C}}$  47.10, 21.22)하는 것을 통해 cyclohexane C-4에 isopropenyl이 결합된 것을 확인하였고, H-1'이 C-7과 결합한 것을 correlation peak( $\delta_{\text{H}}$  4.66/ $\delta_{\text{C}}$  76.60)로 확인하였다. 그리고 C-1, 4 위치의 stereochemistry는 참고문헌을 비교해 볼 때 *trans*-form과 *cis*-form에서 chemical shift값이 각각  $\delta_{\text{C}}$  39.3, 35.2를 나타내는데, 측정결과  $\delta_{\text{C}}$  39.43를 통해 1,4-*trans* form으로 확인되었다. 이 결과를 참고문헌과 비교한 결과 화합물 **12**를 perilloside C로 규명하였다.<sup>25)</sup>

화합물 **13**는 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  337.1631[M+Na] $^+$ 의 수치를 통해 분자식이  $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_6$ 임을 확인하였다.  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에서 화합물 **12**와 유사함을 보였다.  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼으로 cyclohexane C-1, 2 위치에 단일결합 탄소 대신 이중결합 탄소신호( $\delta_{\text{C}}$  135.67(C-1), 126.15(C-2))를 확인하여 cyclohexene 골격을 유추하였다. C-4 위치의 stereochemistry는 선광도 [ $\alpha_{\text{D}}$ ]<sup>25</sup> -32.20 수치를 통해 *S*-form으로 확인되었고, 참고문헌을 통해 화합물 **13**을 perilloside A로 규명하였다.<sup>26)</sup>

화합물 **14**는 ESI-Q-TOF-MS에서  $m/z$  393.1887[M+Na] $^+$ 의 수치를 통해 분자식이  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_7$ 임을 확인하였다.  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼에서  $\delta_{\text{H}}$  5.78(1H, dd,  $J=15.4$ , 6.5 Hz, H-8), 5.65(1H, dd,  $J=15.4$ , 9.4 Hz, H-7)를 통해 *trans*-form의 이중결합을 유추하였고,  $\delta_{\text{H}}$  5.88(1H, s, H-4)에서도 이중결합에서 기인된 수소신호를 확인하였다. 그리고 2개의 메틴기



[ $\delta_H$  4.40(1H, m, H-9),  $\delta_H$  2.68(1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-6)]와 1개의 메틸렌기 [ $\delta_H$  2.44(1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-2a), 2.05(1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-2b)]를 확인하였다. 3개의 메틸기 [ $\delta_H$  1.28(3H, s, 10-CH<sub>3</sub>), 1.03(3H, s, 12-CH<sub>3</sub>), 1.01(3H, s, 11-CH<sub>3</sub>)]를 확인하였고, 이중결합에 결합된 메틸기 [ $\delta_H$  1.94(3H, d,  $J=1.4$  Hz, 13-CH<sub>3</sub>)]를 확인하였다. 그리고 당의 anomeric proton에 해당하는  $\delta_H$  4.35(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1')를 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 19개의 신호를 확인하였으며, 케톤기 [ $\delta_C$  202.22(C-3)]와 2개의 이중결합 [ $\delta_C$  166.07(C-3), 138.38(C-8), 128.99(C-7), 126.27(C-5)]을 확인하였고, glucose에 해당하는 6개의 탄소 신호를 확인하였다. 이를 바탕으로 norisoprenoid 계열인 3-oxo-a-ionol골격에 당이 결합된 구조를 유추하였다. HMBC스펙트럼에서 H-1'이 C-9와 correlation( $\delta_H$  4.35/ $\delta_C$  77.13)하는 것을 통해 C-9 위치에 glucose가 결합된 것을 확인하여 9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-O- $\beta$ -D-glucopyranoside를 추정하였다. 6번, 9번에 탄소의 stereochemistry는 참고문헌의 구조규명 방법에 따라 CD 스펙트럼 및 <sup>13</sup>C-NMR의 화학적 이동값(chemical shift)로 결정하였다. CD 스펙트럼에서 화합물 **14**는 200-250 nm 영역에서 S-form, R-form이 각각 positive, negative Cotton effect를 나타내었고,<sup>28)</sup> 측정된 결과가 200-250 nm 영역에서 positive Cotton effect로 측정되어 6S-form으로 확인되었다. 9번 위치의 절대구조는 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼의 chemical shift 차이로 구분하였는데 참고문헌에서는 S-form과 R-form에서 각각  $\delta_C$  74.7, 77.0를 나타내었고,<sup>29)</sup> 화합물 **14**의 측정 결과가  $\delta_C$  77.13(C-9)로 측정되어 9R-form으로 확인하였다. 따라서 화합물 **14**를 (6S,9R)-9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 규명하였다.<sup>27)</sup>

화합물 **15**의 <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼에서 화합물 **14**와 유사하였으며, 차이점은 H-6의  $\delta_H$  2.68(1H, d,  $J=9.2$  Hz, H-6)가 소실되었고, C-6의 chemical shift가  $\delta_C$  80.15로 downfield 영역으로 이동한 것을 확인하여 C-6 위치에 수산기가 결합한 roseoside로 구조를 추정하였다. 절대구조는 화합물 **14**와 같이 CD 스펙트럼과 <sup>13</sup>C-NMR 스펙트럼을 참고 문헌 수치와 비교하여 6S,9R의 절대구조를 확인하였고 따라서 화합물 **15**를 (6S,9R)-roseoside로 규명하였다.<sup>27)</sup>

**자소엽 열수추출물의 HPLC 분석** - 자소엽 열수추출물을 HPLC와 분리된 성분을 이용하여 분석하였다. HPLC 크로마토그램에서는 전체 피크면적의 75% 이상에 해당하는 5개의 피크 a-e가 주요 성분으로 검출되고 있으며 이를 분리한 성분 **1-15**와 비교하였을 때 피크 a는 caffeic acid(**2**), 피크 b는 luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside(**8**) 및 scutellarein di-glucuronic acid(**8\***)의 혼합물, 피크 c는 apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside(**7**), 피크 e는 luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside(**5**)과 scutellarein-7-O- $\beta$ -D-gluc-

ronopyranoside(**6**)의 혼합물, 그리고 피크 e는 rosmarinic acid(**3**)로 확인하였다.

<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR 및 HPLC 분석 결과를 같이 고려하였을 때 luteolin 및 scutellarein 배당체는 모핵의 구조적 유사성으로 인해 단일 HPLC 피크에 서로 혼재할 가능성이 높아 이러한 성분들을 지표로 설정하여 HPLC를 이용한 정성, 정량적인 평가를 실시할 때 혼재 여부에 대해 확인할 필요가 있다. 좀 더 정확한 분석을 위해서는 본 연구내용과 같이 적어도 NMR을 이용한 성분확인이 필요하다고 판단된다.

## 결 론

자소엽의 열수추출물을 컬럼크로마토그래피와 분광학적 기기분석법을 이용하여 protocatechuic acid, caffeic acid, (R)-rosmarinic acid, (S)-shisoflavanone A, luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside, scutellarein-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside, apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside, luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-glucuronopyranoside, kelampayoside A, trans-N-feruloyloctopamine, 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)-2-methoxyethyl]acrylamide, perilloside C, perilloside A, (6S,9R)-9-hydroxy-megastigma-4,7-dien-3-one-9-O- $\beta$ -D-glucopyranoside 및 (6S,9R)-roseoside의 15개 성분을 규명하였고 scutellarein di-glucuronic acid가 함유되어 있음을 추정하였다. 또한 분리한 성분을 이용한 HPLC 분석을 통하여 자소엽 열수추출물에는 caffeic acid, rosmarinic acid와 luteolin, scutellarein 및 apigenin의 플라보노이드 배당체가 주요성분으로 함유되어 있음을 확인하였다. 본 연구결과는 향후 자소엽을 이용한 천연물 유래 제품들의 품질평가를 위한 기초 성분자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

자소엽에 대한 식물정보는 ‘천연약물도감 I-II’(배기환 저)의 차크기에서 발췌하였으며 이에 본 귀중한 도서를 저술하시고 기증해 주신 충남대학교 약학대학 배기환 명예교수님께 감사의 말씀을 드립니다.

본 연구는 (주)헬릭스미스(2018)와 한국연구재단의 대학중점연구소지원사업(# 2018R1A6A1A03025108)의 연구비 지원을 통하여 수행되었습니다.

## 인용문헌

1. 배기환(2019) 천연약물도감 I-II, pp 141-142 (II). 교학사, 서울.

2. 식품의약품안전처 생약연구과(2017) 한약재 품질표준화 연구사업단 자료집(자소엽), 1-58. 식품의약품안전평가원, 충청북도.
  3. Zheng, J., Dong, Z. and Se, J. (1997) Modern study of traditional Chinese medicines, pp. 4354-4363. Xue Yuan Press, China.
  4. Peng, Y., Ye, J. and Kong, J. (2005) Determination of phenolic compounds in *Perilla frutescens* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J. Agric Food Chem.* **53**: 8141-8147.
  5. Seo, W. H. and Baek, H. H. (2009) Characteristic aromatic compounds of Korean perilla (*Perilla frutescens* Britton) leaf. *J. Agric. Food Chem.* **57**: 11537-11542.
  6. Schantz, M. M., Sander, L. C., Sharpless, K. E., Wise, S. A., Yen, J. H., NguyenPho, A. and Betz, J. M. (2013) Development of botanical and fish oil standard reference materials for fatty acids. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**: 4531-4538.
  7. Kim, J. K., Park, S. Y., Na, J. K., Seong, E. S. and Yu, C. Y. (2012) Metabolite profiling based on lipophilic compounds for quality assessment of perilla (*Perilla frutescens*) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **60**: 2257-2263.
  8. Makino, T., One, T., Liu, N., Nakamura, T., Muso, E. and Honda, G. (2002) Suppressive effects of rosmarinic acid on mesangioproliferative glomerulonephritis in rats. *Nephron* **92**: 898-904.
  9. Nakazawa, T., Yasuda, T., Ueda, J. and Ohsawa, K. (2003) Antidepressant-like effects of apigenin and 2,4,5-trimethoxycinnamic acid from *Perilla frutescens* in the forced swimming test. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 474-480.
  10. Heo, J. C., Nam, D. Y., Seo, M. S. and Lee, S. H. (2011) Alleviation of atopic dermatitis-related symptoms by *Perilla frutescens* Britton. *Int. J. Mol. Med.* **28**: 733-737.
  11. Lee, H. A. and Han, J. S. (2012) Anti-inflammatory effect of *Perilla frutescens* (L.) Britton var. *frutescens* extract in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Prev. Nutr. Food Sci.* **17**: 109-115.
  12. Lin, C. S., Kuo, C. L., Wang, J. P., Cheng, J. S., Huang, Z. W. and Chen, C. F. (2007) Growth inhibitory and apoptosis inducing effect of *Perilla frutescens* extract on human hepatoma HepG2 cells. *J. Ethnopharmacol.* **112**: 557-567.
  13. Qiu, J., Zhang, X., Luo, M., Li, H., Dong, J., Wang, J., Leng, B., Wang, X., Feng, H., Ren, W. and Deng, X. (2011) Sub-inhibitory concentrations of perilla oil affect the expression of secreted virulence factor genes in *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE* **6**: e16160.
  14. Zhao, B. T., Lee, K. R., Lee, J. H., Min, B. S., Son, J. K. and Woo, M. H. (2015) Quality evaluation of Perillae Folium by HPLC/PDA. *Arch. Pharm. Res.* **38**: 1521-1529.
  15. Lee, S. J., Jang, H. J., Kim, Y., Oh, H. M., Lee, S., Jung, K., Kim, Y. H., Lee, W. S., Lee, S. W. and Rho, M. C. (2016) Inhibitory effects of IL-6-induced STAT3 activation of bioactive compounds derived from *Salvia plebeia* R.Br. *Process Biochem.* **51**: 2222-2229.
  16. Shin, S. H., Lee, S. R., Lee, E., Kim, K. H. and Byun, S. (2017) Caffeic acid phenethyl ester from the twigs of *Cinnamomum cassia* inhibits malignant cell transformation by inducing c-Fos Degradation. *J. Nat. Prod.* **80**: 2124-2130.
  17. Nakajima, A., Yamamoto, Y., Yoshinaka, N., Namba, M., Matsuo, H., Okuyama, T., Yoshigai, E., Okumura, T., Nishizawa, I., Ikeya, Y. (2015) CA new flavanone and other flavonoids from green perilla leaf extract inhibit nitric oxide production in interleukin 1 $\beta$ -treated hepatocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **79**: 138-146.
  18. Ozgen, U., Sevindik, H., Zazaz, C., Yigit, D., Kandemir, A., Secen, H. and Calis, I. (2010) A new sulfated  $\alpha$ -ionone glycoside from *Sonchus erzanicus* Matthews. *Molecules* **15**: 2593-2599.
  19. Lu, J., Cheng, C., Zhao, X., Liu, Q., Yang, P., Wang, Y., Luo, G. (2010) PEG-scutellarin prodrugs: Synthesis, water solubility and protective effect on cerebral ischemia/reperfusion injury. *Eur. J. Med. Chem.* **45**: 1731-1738.
  20. Si, C. L., Xu, G. H., Huang, X. F., Du, G. Z., Wu, L. and Hu, W. C. (2016) Phytochemical investigation of hydroalcoholic extractives from branches of *Fraxinus velutina*. *Chem. Nat. Compd.* **52**: 132-133.
  21. Wang, Y., Xue, X., Xiao, Y., Zhang, F., Xu, Q. and Liang, X. (2018) Purification and preparation of compounds from an extract of *Scutellaria barbata* D. Don using preparative parallel high performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* **31**: 1669-1676.
  22. He, D., Slebodnick, C. and Rakotondraibe, L. H. (2017) Bioactive drimane sesquiterpenoids and aromatic glycosides from *Cinnamosma fragrans*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **27**: 1754-1759.
  23. King, R. R., Calhoun, L. A. (2005) Characterization of cross-linked hydroxycinnamic acid amides isolated from potato common scab lesions. *Photochemistry* **66**: 2468-2473.
  24. Lee, C., Kim, J., Lee, H., Lee, S. and Kho, Y. (2001) Two new constituents of *Isodon excisus* and their evaluation in an apoptosis inhibition assay. *J. Nat. Prod.* **64**: 659-660.
  25. Fujita, T. and Nakayama, M. (1993) Monoterpene glucosides and other constituents from *perilla frutescens*. *Phytochemistry* **34**: 1545-1548.
  26. Fujita, T. and Nakayama, M. (1992) Perilloside A, a monoterpene glucoside from *Perilla frutescens*. *Phytochemistry* **31**: 3265-3267.
  27. Wang, Y. S., Liao, Z., Zhu, H. K., Feng, X. F., Jiang, K. M., Huang, R., Zhu, N. and Yang, J. H. (2012) Megastigamane O-glucopyranosides from *Litsea glutinosa*. *Chem. Nat. Compd.* **48**: 346-349.
  28. Yamano, Y. and Ito, M. (2005) Synthesis of optically active vomifoliol and roseoside stereoisomers. *Chem. Pharm. Bull.* **53**: 541-546.
  29. Pabst, A., Barron, D., Semon, E. and Schreier, P. (1992) Two diastereomeric 3-oxo- $\alpha$ -ionol-D-glucosides from raspberry fruit. *Phytochemistry* **31**: 1649-1652.
- (2020. 1. 28 접수; 2020. 2. 21 심사; 2020. 3. 10 게재확정)