

## 주엽나무의 페놀성 성분에 관한 화학적 연구

황윤정 · 이승호\* · 유지용\* · 안중웅\* · 김은주\* · 노재섭 · 이경순  
충북대학교 약학과 · \*한국화학연구소

### Chemical Study on the Phenolic Compounds from *Gleditsia japonica*

Yoon Jeong Hwang, Seung Ho Lee\*, Shi Yong Ryu\*, Jong Woong Ahn\*,  
Eun-Joo Kim\*, Jai Seup Ro and Kyong Soon Lee

Dept. of Pharmacy, Chung Buk National University, Cheongju 360-763 and

\*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-606, Korea

**Abstract**—*Gleditsia japonica* var. *koraiensis* NAKAI (Leguminosae) is commonly distributed in Korea and has been used as a folk medicine in the treatment of bronchitis, neoplasm and blennorrhgia in the Orient.

The aqueous acetone extract of the leaves of *G. japonica* was subjected to a combination of Sephadex LH-20, Cosmosil 75C<sub>18</sub>-OPN, TSK-gel Toyopearl HW 40F, Avicel cellulose, and MCI-gel CHP 20P chromatographies with various solvent systems. Twelve compounds were isolated and confirmed to be vitexin(1), isovitexin(2), orientin(3), isorientin(4), 4-caffeoyl quinic acid(5), 5-caffeoyl quinic acid(6), 3,5-dicaffeoyl quinic acid(7), 4,5-dicaffeoyl quinic acid(8), caffeic acid(9), quercetin(10), isoquercitrin(11) and luteolin-7-O-glucoside(12), on the basis of chemical and spectroscopic evidences.

**Keywords**—*Gleditsia japonica* · phenolic compound · C-glycosidic flavonoid · caffeoyl quinic acid

Phenolic compound는 하나 또는 두개 이상의 수산기로 치환된 방향족환을 가지고 있는 식물 성분의 총칭으로, 1,000가지 이상이 밝혀졌으며 그중 대표적인 화합물은 flavonoid이다.<sup>1)</sup> Flavonoid는 모세혈관 강화작용<sup>2)</sup>, mitomycin 투여시 나타나는 출혈의 감소작용<sup>3)</sup>, 종양의 축소작용<sup>4)</sup>, adrenalin 효과의 증강작용<sup>5)</sup> 및 항 virus 작용<sup>6)</sup> 등 다양한 생리활성이 보고되어 있으며, 새로운 천연의약자원으로서 주목되고 있다.

주엽나무 *Gleditsia japonica* var. *koraiensis*는 콩과 Leguminosae에 속하는 낙엽교목으로서, 높이가 10 m에 달하고 굵은 가지가 나와서 퍼지며 새 가지는 녹색이고 皮木이 산재하며 군데군데

에서 적갈색의 얇은 막이 벗겨지고 小枝같은 편평한 가지가 있다. 잎은 互生하며 卵狀타원형 또는 긴 타원형이고 가장자리에 波狀의 톱니가 있다.<sup>7)</sup> 우리나라, 일본, 중국 등의 산야에 자생하며 과실을 조협, 조각, 종자를 조각자, 가시를 조각刺라 하여 모두 약용한다. 자(刺)는 거담, 진해, 용혈작용이 있고, 과실은 通關節, 除頭風, 消痰涎, 止咳嗽 작용을 가져 기관지염, 편도선염, 종양 등에 이용하고 있다.<sup>8)</sup>

주엽나무의 성분에 관한 연구로는 Hsu<sup>9)</sup>가 tannin이 2.67% 함유되어 있음을 보고하였고, Konoshima 등<sup>10)</sup>이 1980년 靑邱리에서 3종의 triterpenoid saponin을 분리하였고, 1982년에 역

시 Konoshima 등<sup>11)</sup>이 열매에서 gleditsia saponin D<sub>2</sub>, G, I 등의 triterpenoid saponin을 분리하였으며, flavonoid로는 fisetin, fustin<sup>12)</sup>이 보고되었다. 약리활성에 관하여는 saponin을 함유하는 분획이 소염작용, 항궤양작용을 한다고 보고된 바 있다.<sup>13)</sup>

저자들은 주엽나무잎에 대하여 예비실험 한 결과 다량의 phenolic compound가 함유되어 있다는 사실을 알았으며 또, 최근 phenolic compound의 약리활성이 주목을 받고 있는 점에 착안하여 국산생약자원을 개발할 목적으로 본 연구에 착수하여 phenolic compound를 단리, 구조를 구명하였다.

### 실험재료 및 방법

실험재료—충북대학교 약초원에 재식한 주엽나무잎을 1992년 6월에 채집하여 감정한 후 세절하여 사용하였다.

기기 및 시약—용점은 Swiss Büchi사의 Model 510-K 미량용점측정기를 사용하였고 보정하지 않았으며, 선광도는 JASCO DIP-4 선광계를 사용하여 측정하였다.

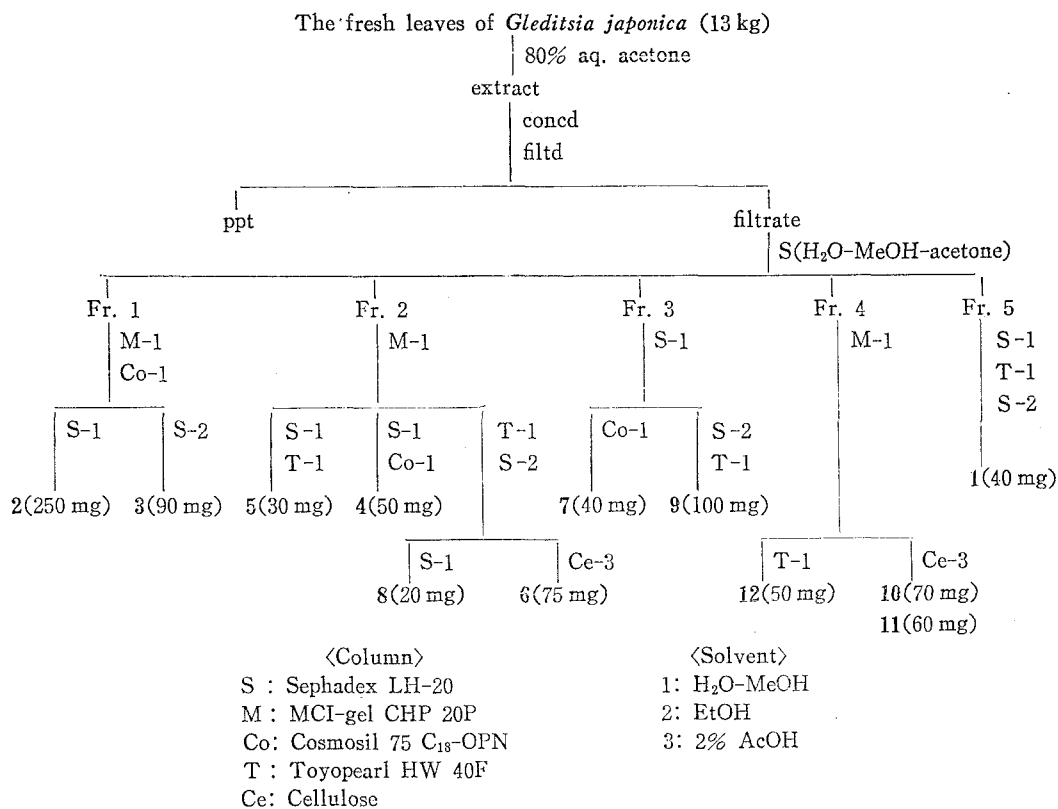
IR spectrum은 Perkin-Elmer spectrophotometer (Model LE599, U.K.)로 측정하였고, UV spectrum은 일본 Shimadzu사의 UV-240으로 측정하였으며 FAB-MS는 JEOL JMS DX-300/JMA 3500 질량분석계를 사용하였다. <sup>1</sup>H-NMR(200 MHz) 및 <sup>13</sup>C-NMR(50.1MHz) spectrum은 Varian-Gemini 핵자기공명장치로 측정하였으며 chemical shift는 TMS를 내부표준물질로 하는 δ치(ppm)로 나타내었고, 결합정수는 Hz로 표시했다. Column chromatography는 Sephadex LH-20(25~100μ, Pharmacia Fine Chemical Co., Ltd.), Cosmosil 75 C<sub>18</sub>-OPN(42~105μ, Nacalaitesque Co., Ltd.), TSK-gel Toyopearl HW 40F(30~60μ, Tosoh Co.), Avicel cellulose(Sigma), MCI-gel CHP 20P(75~150μ, Mitsubishi Chemical Industries Co., Ltd.)를 사용했다. TLC는 Kieselgel 60F<sub>254</sub> plate(0.2 mm, Merck) [용매: benzene-ethylformate-formic acid (1:7:1 및 1:5:2, v/v), chloroform-methanol-water(13:

7:2, v/v, lower phase), cellulose F<sub>254</sub> plate (0.1 mm, Merck) [용매: 2% AcOH (phenolic compound), *n*-butanol-pyridine-water(6:6:3, sugar)]를 이용하였고, 검출은 1% ethanol성 FeCl<sub>3</sub> 시액(phenolic compound), 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 시약(sugar 및 각종 methylether) 및 UV lamp(254 nm)를 사용하였다.

추출 및 분리—주엽나무 잎 13.1 kg을 세절하여 Scheme I에서와 같이 80% 수성 acetone으로 실온에서 4회 반복 추출하였다. 추출액은 감압하에서 acetone을 유거하고 생성되는 침전을 여과하여 제거한 후 여액은 재차 농축하여 Sephadex LH-20 column(9 cm×50 cm)에 걸어 H<sub>2</sub>O-MeOH-Me<sub>2</sub>CO를 gradient로 순차적으로 용출시켜 Fr. 1~Fr. 5까지 분획하였다. 각 분획에 대해서는 각종 column chromatography를 반복 실시하여 compound 1~12를 단리하였다(Scheme I).

**Compound 1**—황색분말(H<sub>2</sub>O), Mg-HCl: 적색, Zn-HCl: pink; EI-MS *m/z*: 414(M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O), IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3230(OH), 1660(C=O); <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 4.70(1H, d, *J*=9.5Hz, Glc-1), 6.25(1H, s, H-6), 6.76(1H, s, H-3), 6.89(2H, d, *J*=8.0Hz, H-3', H-5'), 8.01(2H, d, *J*=8.0Hz, H-2', H-6'); <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 181.9(C-4), 164(C-2), 162.4(C-7), 160.9(C-4'), 160.6(C-5), 155.8(C-9), 128.5(C-2', 6'), 121.8(C-1'), 116.6(C-3', C-5'), 104.2(C-8, 10), 102.5(C-3), 99.1(C-6), 81.8(C-5''), 79.3(C-3''), 74.3(C-1''), 71.5(C-2''), 69.9(C-4''), 63.1(C-6'').

**Compound 2**—황색침상결정(H<sub>2</sub>O), Cyanidine test: 등황색, Pew's test: 홍색, NH<sub>3</sub> vapor: 황색, FeCl<sub>3</sub>: 회색, mp 220~222°; MS *m/z*: 432(M<sup>+</sup>), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>+16°, (c=0.34, EtOH); IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3400(OH), 1645(C=O); UV, λ<sub>max</sub>(MeOH) 271, 336nm; λ<sub>max</sub>(NaOMe) 282, 329, 398; λ<sub>max</sub>(AlCl<sub>3</sub>+HCl) 260, 280, 302, 344, 380; λ<sub>max</sub>(NaOAc) 282, 303, 385; λ<sub>max</sub>(NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 273, 346, 408; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 3.0~4.0(6H, m), 4.70(1H, d, *J*=10.0Hz, Glc-1), 6.56(1H, s, H-8), 6.77(1H, s, H-3), 6.95(2H, d, *J*=8.5Hz, H-3', 5'), 7.95(2H, d,



Scheme I. Isolation of the compounds 1~12

$J=8.5\text{Hz}$ , H-2', 6'); <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 163.8(C-2), 102.9(C-3), 181.9(C-4), 156.9(C-5), 108.8(C-6), 163.8(C-7), 94.2(C-8), 161.3(C-9), 103.5(C-10), 121.2(C-1'), 128.4(C-2'), 116.3(C-3'), 160.6(C-4'), 116.3(C-5'), 128.4(C-6'), 79.0(C-1''), 73.4(C-2''), 70.7(C-3'', 4''), 81.3(C-5''), 61.6(C-6'').

**Compound 3**—황색분말(H<sub>2</sub>O), mp 260~263°,  $[\alpha]_D^{20} -8.57^\circ$  (c=0.10, MeOH), Mg-HCl, Zn-HCl test: 적색; FAB-MS(positive)  $m/z$ : 449  $[M+H]^+$ ; UV,  $\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 255, 267, 293, 346 nm;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOMe) 268, 278, 334, 405;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>) 276, 302, 329, 429;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>+HCl) 265, 276, 296, 357, 384;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc) 278, 325, 386;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 264, 375, 430; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 4.68(1H, d,  $J=9.5\text{Hz}$ , Glc H-1), 6.26(1H, s, H-6), 6.64(1H, s, H-3), 6.86(1H, d,  $J=8.5\text{Hz}$ , H-5'), 7.53(1H, d,  $J=2.0\text{Hz}$ , H-2'), 7.48(1H, dd,  $J=8.4,$

$2.0\text{Hz}$ , H-6'); <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 164.0(C-2), 102.4(C-3), 181.9(C-4), 160.1(C-5), 97.7(C-6), 162.4(C-7), 104.5(C-8), 160.0(C-9), 104.0(C-10), 122.0(C-1'), 113.9(C-2'), 145.6(C-3'), 149.4(C-4'), 115.6(C-5'), 119.4(C-6'), 73.8(C-1'').

**Compound 4**—황색분말(H<sub>2</sub>O), mp 230~233°, Mg-HCl, Zn-HCl test: 적색,  $[\alpha]_D^{20} +6.82^\circ$  (c=0.13, MeOH); EI-MS  $m/z$ : 430(M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O); UV,  $\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 242, 255, 271, 349 nm;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOMe) 267, 278, 337, 406;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>) 278, 302, 332, 429;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>+HCl) 265, 279, 296, 361, 384;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc) 276, 323, 393;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 265, 377, 429; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 4.58(1H, d,  $J=9.5\text{Hz}$ , Glc H-1), 6.49(1H, s, H-8), 6.66(1H, s, H-3), 6.89(1H, d,  $J=8.5\text{Hz}$ , H-5'), 7.40(1H, d,  $J=2.0\text{Hz}$ , H-2'), 7.42(1H, dd,  $J=8.5, 2.3\text{Hz}$ , H-6'); <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 163.3(C-

2), 103.3(C-3), 181.8(C-4), 156.1(C-5), 108.7(C-6), 163.6(C-7), 93.5(C-8), 160.6(C-9), 102.7(C-10), 121.3(C-1'), 113.2(C-2'), 145.7(C-3'), 149.6(C-4'), 116.0(C-5'), 118.9(C-6'), 72.9(C-1'').

**Compound 1, 2, 3, 4의 Wessley-Moser rearrangement** 반응—시료 5 mg을 MeOH: 2N-HCl(1:1)혼액에 녹여 100°C에서 24시간 환류냉각 후 cellulose TLC plate(solvent: 15% AcOH)로 확인하여 원물질과 또 하나의 spot을 얻어, 이를 표품과 co-TLC를 실시하여 각각 compound 1에서는 compound 2, 2에서는 1을, compound 3에서는 compound 4, 4에서는 3을 확인하였다.

**Compound 5**—무색분말 (H<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 1.60~2.10(4H, m, H-2, 6), 3.90(1H, m, H-3), 4.00(1H, m, H-5), 5.32(1H, m, H-4), 6.75(1H, d, J=9.0Hz, H-5'), 6.88(1H, d, J=16.0Hz, H-8'), 6.99(1H, dd, J=2.0, 9.0Hz, H-6'), 7.09(1H, d, J=2.0Hz, H-2'), 7.52(1H, d, J=16.0Hz, H-7'); <sup>13</sup>C-NMR (acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 76.1(C-1), 39.1(C-2), 71.5(C-3), 73.4(C-4), 71.3(C-5), 37.6(C-6), 175.0(C-7), 127.6(C-1'), 115.1(C-2'), 146.2(C-3'), 148.6(C-4'), 115.6(C-5'), 122.5(C-6'), 145.7(C-7'), 116.3(C-8'), 167.1(C-9').

**Compound 6**—무색분말 (H<sub>2</sub>O); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 1.68~2.10(4H, m, H-2, 6), 5.16(1H, m, H-5), 3.86(1H, m, H-3), 3.55(1H, m, H-4), 6.21(1H, d, J=16.0Hz, H-8'), 6.75(1H, d, J=9.0Hz, H-5'), 6.97(1H, dd, J=2.0, 9.0Hz, H-6'), 7.02(1H, d, J=2.0Hz, H-2'), 7.46(1H, d, J=16.0Hz, H-7'); <sup>13</sup>C-NMR (acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 72.9(C-1), 38.7(C-2), 67.2(C-3), 71.0(C-4), 72.9(C-5), 35.1(C-6), 176.0(C-7), 125.8(C-1'), 114.6(C-2'), 145.6(C-3'), 148.1(C-4'), 115.1(C-5'), 121.2(C-6'), 144.5(C-7'), 115.9(C-8'), 166.1(C-9').

**Compound 7**—무색분말; <sup>1</sup>H-NMR (acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 2.1~2.4(4H, m, H-2, 6), 4.05(1H, dd, J=3.0, 9.0Hz, H-4), 5.32(1H, m, H-5),

5.40(1H, m, H-3), 6.24(1H, d, J=16.0Hz, H-8'), 6.28(1H, d, J=16.0Hz, H-8''), 6.85~7.15(6H, m, H-2', 2'', 5', 5'', 6', 6''), 7.55(1H, d, J=16.0Hz, H-7'), 7.58(1H, d, J=16.0Hz, H-7''); <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 72.6(C-1), 72.6(C-5), 38.7(C-2), 71.1(C-3), 70.1(C-4), 34.6(C-6), 174.0(C-7), 125.9, 125.6(C-1', 1''), 113.9, 114.8(C-2', 2''), 145.0, 145.6(C-3', 3''), 148.3, 148.6(C-4', 4''), 115.9, 116.1(C-5', 5''), 121.7, 121.8(C-6', 6'').

**Compound 8**—<sup>1</sup>H-NMR(acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 2.0~2.4(4H, m, H-2, 6), 4.4(1H, m, H-3), 5.05(1H, dd, J=3.5, 9.0Hz, H-4), 5.61(1H, m, H-5), 6.28(1H, d, J=16.0Hz, H-8'), 6.30(1H, d, J=16.0Hz, H-8''), 6.80~7.20(6H, m, H-2', 2'', 5', 5'', 6', 6''), 7.55(1H, d, J=16.0Hz, H-7'), 7.57(1H, d, J=16.0Hz, H-7''); <sup>13</sup>C-NMR(acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 74.5(C-1), 41.3(C-2), 65.4(C-3), 75.5(C-4), 69.5(C-5), 36.6(C-6), 178.0(C-7), 122.5, 122.6(C-1', 1''), 114.7, 115.0(C-2', 2''), 146.0, 146.2(C-3', 3''), 148.8, 148.9(C-4', 4''), 115.4, 116.1(C-5', 5''), 122.1, 122.2(C-6', 6''), 146.0, 146.2(C-7', 7''), 115.1, 115.4(C-8', 8''), 166.9, 167.2(C-9', 9'').

**Compound 9**—무색침상결정 (H<sub>2</sub>O), mp 214~215°; IR, ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup> 3,400(OH), 1,650(COO); <sup>1</sup>H-NMR(acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 6.27(1H, d, J=16.0Hz, H-2), 6.87(1H, d, J=8.0Hz, H-5'), 7.05(1H, dd, J=2.0, 8.0Hz, H-6'), 7.17(1H, d, J=2.0Hz, H-2'), 7.54(1H, d, J=16.0Hz, H-3).

**Compound 10**—황색분말(H<sub>2</sub>O), mp 311~313°, FeCl<sub>3</sub> test: 오록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색; IR, ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup> 3,350(OH), 1,685(C=O), 1,615, 1,505(C=C); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 6.17(1H, d, J=2.0Hz, H-6), 6.39(1H, d, J=2.0Hz, H-8), 6.87(1H, d, J=8.0Hz, H-5'), 7.53(1H, dd, J=2.0, 8.0Hz, H-6'), 7.66(1H, d, J=2.0Hz, H-2'), 12.46(1H, s, C<sub>5</sub>-OH); <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) δ: 146.9(C-2), 135.8(C-3), 175.9(C-4), 160.8(C-5), 98.3(C-6), 164.0(C-7), 93.5(C-8), 156.2(C-9), 103.1(C-

10), 122.1(C-1'), 115.2(C-2'), 145.1(C-3'), 147.7(C-4'), 115.7(C-5'), 120.1(C-6').

**Compound 11**—황색분말(H<sub>2</sub>O), 1% ethanolic FeCl<sub>3</sub>: 오록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색, mp 231~233°, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -10.5°(c=0.3, MeOH); IR,  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3,300(OH), 1,650(C=O); UV,  $\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 256, 358 nm;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOMe) 272, 327, 402;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>) 272, 422;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>+HCl) 266, 399;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 262, 378; <sup>1</sup>H-NMR(acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 5.25(1H, d,  $J$ =8.0 Hz, H-1''), 6.35(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-6), 6.60(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-8), 7.00(1H, d,  $J$ =8.0 Hz, H-5'), 7.70(1H, dd,  $J$ =2.0, 8.0 Hz, H-6'), 8.23(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-2'), 12.44(1H, s, 5-OH); <sup>13</sup>C-NMR(acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 157.5(C-2), 134.7(C-3), 178.3(C-4), 161.4(C-5), 99.2(C-6), 164.7(C-7), 94.3(C-8), 157.1(C-9), 104.5(C-10), 121.9(C-1'), 115.2(C-2'), 144.6(C-3'), 148.6(C-4'), 117.2(C-5'), 122.0(C-6'), 104.7, 75.8, 73.8, 72.1, 68.5, 60.5(sugar).

**Compound 11**의 산 가수분해—시료 30 mg을 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액에 녹여 90°C에서 5시간 환류병 각하면서 가열한 후 반응액을 BaCO<sub>3</sub>로 중화한 후 석출되는 염을 여과하여 제거하고 얻어진 여액을 ethylacetate로 분획하였다. Ethylacetate 층에서 quercetin을, 물 분획에서는 D-glucose를 표품과 함께 TLC를 실시하여 확인하였다.

**Compound 12**—mp 242~243°, FeCl<sub>3</sub>: 적갈색, Mg-HCl, Zn-HCl: 차홍색; UV,  $\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) 255, 267, 348;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOMe) 263, 300, 394;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>) 274, 298, 329, 432;  $\lambda_{\text{max}}$ (AlCl<sub>3</sub>+HCl) 273, 294, 358, 387;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc) 259, 266, 365, 405;  $\lambda_{\text{max}}$ (NaOAc+H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 259, 372; <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 5.1(1H, d,  $J$ =9.0 Hz, Glc H-1), 6.42(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-6), 6.75(1H, s, H-3), 6.77(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-8), 6.92(1H, d,  $J$ =8.0 Hz, H-5'), 7.42(1H, dd,  $J$ =2.0, 8.0 Hz, H-6'), 7.49(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-2').

**Compound 12**의 가수분해—시료 100 mg을 conc. HCl에 넣어 3분간 가열 후 생성된 aglycone을 MeOH로 재결정하여 황색침정(12A) (mp

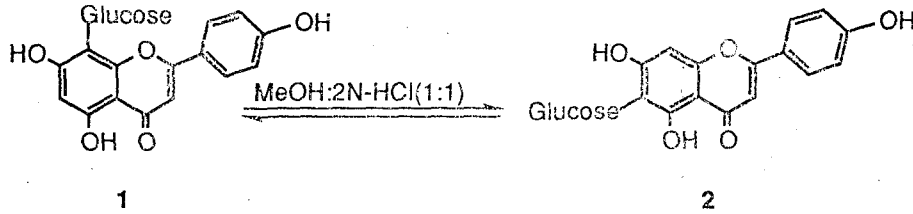
325°, luteolin, 58.3 mg)을 얻었다. **12A**: <sup>1</sup>H-NMR(CCl<sub>4</sub>+D<sub>2</sub>O)  $\delta$ : 7.50(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-2'), 7.42(1H, dd,  $J$ =8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.85(1H, d,  $J$ =8.0 Hz, H-5'), 6.21(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-6), 6.60(1H, d,  $J$ =2.0 Hz, H-8), 6.30(1H, s, H-3).

## 결과 및 고찰

Compound 1 및 2는 황색분말로서 Mg-HCl, Zn-HCl test에 적색을 나타내었고, IR spectrum에서 hydroxyl기와 carbonyl기에 의한 흡수를 나타내었다. <sup>1</sup>H-NMR에서는 spectrum은 aromatic field에서 각각 o-coupling하고 있는 2H분의 doublet이 두개씩 관찰되었고 aliphatic field에서는 한개의 hexose에 기인하는 proton signal이 관찰된다. <sup>13</sup>C-NMR(Table I)에서는 90~165 ppm 사이에 12개의 sp<sup>2</sup> carbon signal이 관찰되었고, 182 ppm에 ketone의 carbon signal이 관찰되어 이들 화합물들은 apigenin을 모핵으로 하는 flavonoid임을 알 수 있다. 또한, 74.3(comp. 1) 및 79.0(comp. 2) ppm에서 glucose의 anomeric carbon

**Table I.** <sup>13</sup>C-NMR spectral data of compounds 1, 2, 3, 4, apigenin and luteolin( $\delta$  values in DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)

| C   | 1     | 2     | Apigenin | 3     | 4     | Luteolin |
|-----|-------|-------|----------|-------|-------|----------|
| 2   | 164.0 | 163.8 | 164.2    | 164.0 | 163.6 | 164.5    |
| 3   | 102.5 | 102.9 | 103.1    | 102.4 | 103.3 | 103.3    |
| 4   | 181.9 | 181.9 | 182.0    | 181.9 | 181.8 | 182.2    |
| 5   | 160.6 | 156.9 | 161.5    | 160.1 | 156.1 | 162.1    |
| 6   | 99.1  | 108.8 | 99.1     | 97.7  | 108.7 | 99.2     |
| 7   | 162.4 | 163.8 | 163.9    | 162.4 | 163.6 | 164.7    |
| 8   | 104.2 | 94.2  | 94.4     | 104.5 | 93.5  | 94.2     |
| 9   | 155.8 | 161.3 | 157.7    | 160.0 | 160.6 | 157.9    |
| 10  | 104.2 | 103.5 | 104.1    | 104.0 | 102.7 | 104.2    |
| 1'  | 121.8 | 121.2 | 121.6    | 122.0 | 121.3 | 122.1    |
| 2'  | 128.5 | 128.4 | 128.6    | 113.9 | 113.2 | 113.8    |
| 3'  | 116.6 | 116.3 | 116.3    | 145.6 | 145.7 | 146.2    |
| 4'  | 160.9 | 160.6 | 161.2    | 149.4 | 149.6 | 150.2    |
| 5'  | 116.6 | 116.3 | 116.3    | 115.6 | 116.0 | 116.4    |
| 6'  | 128.5 | 128.4 | 128.6    | 119.4 | 118.9 | 119.3    |
| 1'' | 74.3  | 79.0  |          | 73.8  | 72.9  |          |

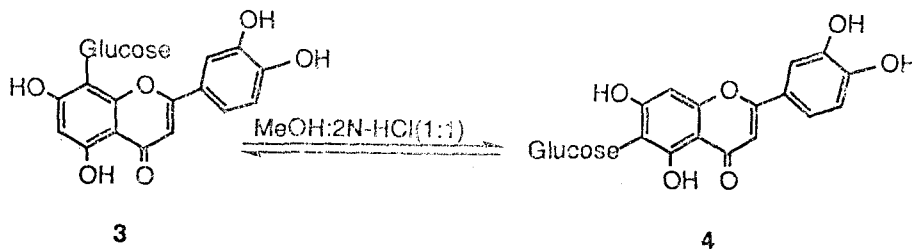


signal이 관찰되어, 이들은 C-glucoside 결합을 하고 있음을 알 수 있다. Glucose의 결합 위치를 확인하기 위하여 glucose가 결합되어 있지 않은 apigenin과  $^{13}\text{C-NMR}$ 을 비교해보면 compound 1에서는 C-8위의 carbon signal이 apigenin의 94.4 ppm에 비해 104.2 ppm으로, compound 2에서는 apigenin의 6위의 carbon signal이 99.18 ppm에서 108.8 ppm으로 저자장 shift하여 각각 apigenin의 8위(comp. 1) 및 6위(comp. 2)에 glucose가 결합되어 있음을 알았다. 다시 이 compound를 MeOH:2N-HCl(1:1) 혼합액에 녹여 환류냉각시 6-, 8-C-glucosyl flavonoid에서 볼 수 있는 Wessely-Moser rearrangement가 관찰되었다. 이상의 결과를 종합하여 compound 1을 vitexin<sup>14-16)</sup>으로 compound 2를 isovitexin<sup>14, 15, 17, 18)</sup>이라 결정하고, 표준과 각종 spectral data를 비교하여 동정하였다.

Compound 3 및 4는 황색분말로서 Mg-HCl, Zn-HCl test에 적색을 나타내어 flavonoid임을 추측하였다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서는 aromatic field에서 각각 *o*-coupling에 하고 있는 1H분의 doublet과 *m*-coupling에 하고 있는 1H분의 doublet, *o*-, *m*-coupling에 하고 있는 1H분의 doublet signal이 관찰되었고,  $^{13}\text{C-NMR}$ (Table I)에서는 14개의  $\text{sp}^2$  carbon signal, 1개의 carbonyl signal이 관찰되며, 73.8 ppm(comp. 3), 72.9 ppm(comp. 4)에서 glucose의 anomeric carbon

signal이 관찰되어, 이들은 luteolin의 C-glycoside임을 알았다. Glucose의 결합 위치를 확인하기 위하여 genin인 luteolin과  $^{13}\text{C-NMR}$ 을 비교해보면 compound 3은 C-8위의 signal이 luteolin의 94.2 ppm에 비해 104.5 ppm으로, compound 4는 C-6위의 signal이 luteolin은 99.2 ppm인데 비해 108.7 ppm으로 저자장 shift되어 있어 이들 위치에 glucose가 C-glycoside 결합되어 있음을 알았다. 다시 compound 3, 4를 compound 1, 2에서와 같이 MeOH:2N-HCl(1:1) 혼합액에 녹여 환류냉각시 Wessely-Moser rearrangement가 관찰되었다. 이상의 결과를 종합하여 compound 3은 orientin<sup>19)</sup>, compound 4를 isorientin<sup>19)</sup>이라 결정하고 표준과  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C-NMR}$  등 각종 spectral data를 비교하여 동정하였다.

Compound 5와 6은 모두 무정형 무색분말로  $\text{FeCl}_3$  test에 청색을 나타내고,  $^1\text{H-NMR}$  spectrum이 매우 유사하여 구조이성체일 것으로 추정하였다. Aromatic field에서 compound 5는 6.75 ppm에서 *o*-coupling 하고 있는 1H분의 doublet과 7.09 ppm에서 *m*-coupling 하고 있는 1H분의 doublet, 6.99 ppm에서 *o*-, *m*-coupling 하고 있는 double doublet이 관찰되었고, 6.88 및 7.52 ppm에서 *trans* coupling 하고 있는 각각 1H분의 olefinic proton signal이 관찰되어 분자내에 caffeoyl기가 존재함을 알 수 있었고, compound 6도 6.75 ppm에서 *o*-coupling에 하고 있는 1H분



의 doublet과 7.02 ppm에서 *m*-coupling 하고 있는 1H분의 doublet, 6.97 ppm에서 *o*-, *m*-coupling 하고 있는 double doublet, 6.21 및 7.46 ppm에서 *trans* coupling하고 있는 각각 1H분의 olefinic proton signal이 관찰되어 분자내에 역시 1개의 caffeoyl기가 존재함을 알 수 있었다. 또한, 두 compound를 산가수분해시 caffeic acid와 quinic acid를 얻었다. 따라서, compound 5, 6은 monocaffeoyl quinic acid로 추정된다. Caffeoyl기의

결합위치에 관하여는 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에 있어서 aliphatic field에서 compound 5는 5.32 ppm에 저자장 shift 하고 있는 multiplet이 quinic acid의 H-4에 귀속되고, compound 6에서는 5.16 ppm에 저자장 shift 하고 있는 multiplet가 quinic acid의 H-5에 귀속됨에 따라 각각 이들의 위치로 결정하였다. Compound 6에 있어서 caffeoyl기의 결합위치를 다시 확인하기 위하여 decoupled <sup>1</sup>H-NMR spectrum을 측정하였다. Decoupled

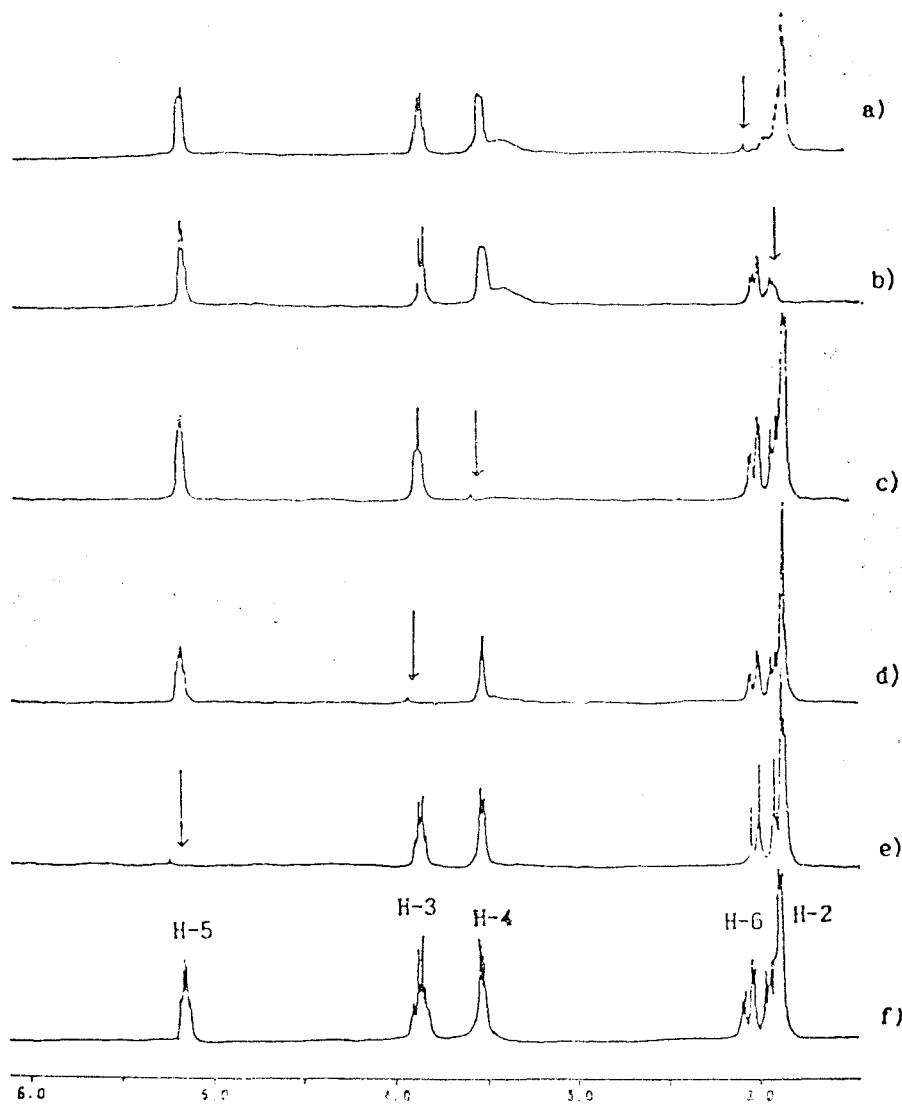


Fig. 1. Decoupled <sup>1</sup>H-NMR spectra of compound 6

- a) Irr. at  $\delta$  2.10(H-6) b) Irr. at  $\delta$  1.82(H-2)
- c) Irr. at  $\delta$  3.55(H-4) d) Irr. at  $\delta$  3.86(H-3)
- e) Irr. at  $\delta$  5.16(H-5) f) Non-decoupled

<sup>1</sup>H-NMR spectrum(Fig.1)에서 3.55 ppm의 signal을 irradiation 시켰을 때, 5.16 및 3.86 ppm의 signal이 변화하므로 3.55 ppm의 multiplet은 H-4의 signal임을 확인하여, H-5, H-3중의 하나에 caffeoyl기가 결합되어 있다고 생각하였다. 그러나, 3-caffeoyl quinic acid(chlorogenic acid) 표준품과 compound 6은 co-TLC와 <sup>13</sup>C-NMR data(Table II)를 비교하였을 때 일치하지 않았으므로 quinic acid의 5위에 caffeoyl기가 결합된 것임을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 compound 5는 quinic acid의 4위에 caffeoyl기가 결합된 4-caffeoyl quinic acid<sup>20)</sup>, compound 6은 quinic acid의 5위에 caffeoyl기가 결합된 5-caffeoyl quinic acid로 결정<sup>20)</sup>하고 표준품과 co-TLC 및 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR을 비교하여 동정하였다.

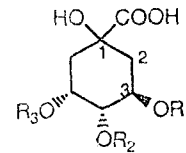
Compound 7, 8은 무색분말로서 FeCl<sub>3</sub> test에 청색을 나타내고, <sup>1</sup>H-NMR spectrum이 매우 유사하여 구조이성체임을 알 수 있었다. 즉 aromatic field에 각각 2분자의 caffeoyl group에 기인하는

proton signal이 관찰되고, compound 7, 8을 산으로 가수분해시 caffeic acid와 quinic acid를 얻어 이들 모두 dicaffeoyl quinic acid로 추정하였다. Caffeoyl기의 결합위치에 관하여는 compound 7의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에 있어서 저자장 shift 하고 있는 5.32 ppm 및 5.40 ppm의 proton signal이 coupling pattern으로 보아 quinic acid의 3, 5위에 귀속되고, compound 8에 있어서는 저자장 shift 하고 있는 5.05, 5.61 ppm의 proton signal이 각각 quinic acid의 4, 5위에 귀속됨에 따라 이들의 위치로 결정했다. 이상의 결과를 종합하여 compound 7은 3,5-dicaffeoyl quinic acid<sup>21)</sup>, compound 8은 4,5-dicaffeoyl quinic acid<sup>21)</sup>로 결정하고 표준품과 <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR(Table II)을 비교하여 동정하였다.

Compound 12는 FeCl<sub>3</sub>에 적갈색, Mg-HCl, Zn-HCl test에 자홍색을 나타내어 flavonoid임을 알았다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서는 aromatic field에서 6.42, 6.77 ppm에 각각 J=2Hz로 m-coupling하고 있는 flavonoid A환의 6 및 8위의

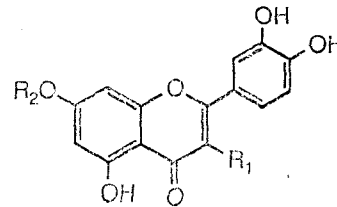
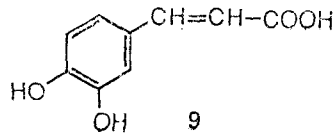
Table II. <sup>13</sup>C-NMR spectral data of quinic acid moiety of chlorogenic acid(C. A), compounds 5, 6, 7 and 8(δ value, acetone-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O)

| C | C.A   | 5     | 6     | 7     | 8     |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 73.7  | 76.1  | 72.9  | 72.6  | 74.5  |
| 2 | 37.1  | 39.1  | 38.7  | 38.7  | 41.3  |
| 3 | 71.2  | 71.5  | 67.2  | 71.1  | 65.4  |
| 4 | 70.6  | 73.4  | 71.0  | 70.1  | 75.5  |
| 5 | 68.4  | 71.3  | 72.9  | 72.6  | 69.5  |
| 6 | 36.1  | 37.6  | 35.1  | 34.6  | 36.6  |
| 7 | 174.7 | 175.0 | 176.0 | 174.0 | 178.0 |



|   | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|---|----------------|----------------|----------------|
| 5 | H              | Ca             | H              |
| 6 | H              | H              | Ca             |
| 7 | Ca             | H              | Ca             |
| 8 | H              | Ca             | Ca             |

Ca:Caffeoyl



|    | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> |
|----|----------------|----------------|
| 10 | H              | OH             |
| 11 | OG             | H              |
| 12 | H              | G              |

G:Glucosyl



전형적인 signal이 관찰되고, 6.75 ppm에 H-3에 기인하는 singlet이 관찰되었으며, 6.92 ppm에서 *o*-coupling하고 있는 doublet, 7.42 ppm에서 *o*-, *m*-coupling하고 있는 double doublet, 7.49 ppm에서 *m*-coupling하고 있는 doublet이 관찰되어 B 환의 3, 4위가 치환되어 있음을 알았다. 또한, aliphatic field에서는 5.1 ppm에서 glucose의 anomeric proton에 기인하는 doublet이 관찰되었으며, compound 12를 HCl로 가수분해시켜 glucose와 aglycone으로 luteolin을 얻었다. 당의 결합위치를 확인하기 위하여 UV spectrum 관찰시, NaOAc를 첨가하여도 band II의 bathochromic shift가 일어나지 않아 free 7-OH기가 없는 것을 알 수 있었고, AlCl<sub>3</sub>/HCl 첨가시 band Ia, Ib, IIa, IIb가 나타나 free 5-OH기가 존재함을 알았으며, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 첨가시 bathochromic shift와 AlCl<sub>3</sub>/HCl 첨가시 보다 AlCl<sub>3</sub> 첨가시 bathochromic shift가 일어난 것으로 B ring에 free dihydroxyl group이 존재한다는 것을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 compound 12는 luteolin-7-O-glucoside<sup>22)</sup>로 추정하고 표준품과 co-TLC 및 <sup>1</sup>H-NMR을 비교하여 동정하였다.

## 결 론

국산 생약자원을 개발할 목적으로 주엽나무잎의 phenolic compound에 관한 연구를 실시하였다. 시료를 80% acetone으로 추출하여 얻은 추출물을 각종 column chromatography를 실시하여 12종의 phenolic compound를 분리하였다. 이들 화합물은 <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR, UV, IR 등의 spectrum data의 해석, 분해반응, 표준품과의 비교 시험 등의 결과에 의하여 vitexin(1), isovitexin(2), orientin(3), isoorientin(4), 4-caffeoyl quinic acid(5), 5-caffeoyl quinic acid(6), 3,5-dicaffeoyl quinic acid(7), 4,5-dicaffeoyl quinic acid(8), caffeic acid(9), quercetin(10), isoquercitrin(11) 및 luteolin-7-O-glucoside(12)로 동정하였으며, 주성분은 vitexin(1)이었다. 주엽나무의 flavonoid는 C-glycoside가 많고, caffeoyl quinic acid의 조성이 다양한 것이 특징이다.

〈1994년 2월 16일 접수 : 2월 28일 수리〉

## 참 고 문 헌

1. 우원석 : 천연물화학 연구법, 민음사, p. 73(1984).
2. Griffith, J.Q., Jr., Krewson, C.F. and Naghski, J.: *Rutin and Related Flavonoids*, Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1955).
3. Sokoff, B. and McConnel, B.: *Intern. Conger. Chemotherapy*, Proc. 3rd. (Stuttgart.) p. 1002 (1963).
4. Lieber, J. et al.: *Natl. Cancer Inst.* 10, 1273 (1953).
5. Clark, W.G. et al.: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 95, 362 (1949).
6. Uri, G. Csoban and Viragh, E.: *Physiol. Acad. Sci. Hung.* 2, 223 (1951).
7. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, p. 464 (1980).
8. 이경순, 문영희 : 본초학, 진명출판사, p. 330 (1975).
9. Hsu, S.H., Chang, H.L. and Tien, Y.W.: *J. Chem. Eng. China* 7, 26 (1940).
10. Konoshima, T., Inui, H. and Sato, K.: *Chem. Pharm. Bull.* 28, 3473 (1980).
11. Konoshima, T. and Sawada, T.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 4082 (1982).
12. Mitsuno, M. and Yoshizaki, M.: *Yakugaku Zasshi* 77, 1208 (1957).
13. Yamahara, J., Shintani, Y., Konoshima, T., Sawada, T. and Fujimura, H.: *Yakugaku Zasshi* 95, 1179 (1975).
14. Koeppen, B.H. and Roux, D.G.: *J. Biochem.* 97, 444 (1965).
15. Markham, K.R.: *Technics of Flavonoid Identification*, Academic Press, London, New York, p. 56 (1982).
16. Ogawa, M. and Takagi, I.: *Shoyakugaku Zasshi* 33, 232 (1979).
17. 양기숙, 김태희 : 생약학회지 14, 92 (1983).
18. Agrawal, F.K.: *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier, p. 330 (1989).
19. Matsuzaki, K.: *Shoyakugaku Zasshi* 44, 251(1990).
20. Iwahashi, H., Osaka, N. and Kido, R.: *J. Chrom.* 315, 253 (1984).
21. Babara, N., Joseph, T. and Hoffmann, J.: *J. Nat. Prod.* 46, 365 (1983).
22. Kang, S.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 12, 203(1981).