생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
26(4) : 327~336 (1995)

층층나무 잎의 Phenol성 성분(Ⅰ)

이동호 · 이승호* · 정시련* · 노재섭 · 이경순
충북대학교 약학대학, 영남대학교 약학대학*

Phenolic Components from the Leaves of *Cornus controversa* H.

Dongho Lee, Seung-Ho Lee*, See Ryun Chung*,
Jaiseup Ro and Kyongsoon Lee
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 360-763 and
*College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan, 712-749, Korea

Abstract—Twelve phenolic components were isolated from the aqueous acetone extract of the leaf of *Cornus controversa* H. (Cornaceae). On the basis of chemical and spectroscopic evidence, the structures of these components were established as gallic acid, 1-O-galloyl-β-D-glucose, 1,6-di-O-galloyl-β-D-glucose, 1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose, 1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose, 3,4,6-tri-O-galloyl D-glucose, eugeniin, gemine D, quercetin, quercitrin, hyperoside and rutin.

Keywords—*Cornus controversa* · Cornaceae · gallic acid · galloylglucose · hydrolysable tannin · flavonoid · phenolic compound

층층나무 *Cornus controversa* H.는 층층나무과 Cornaceae에 속하는 落葉喬木으로 높이가 20 m에 달하고, 민간에서는 滋養, 强壯, 收斂등에 사용하고[1,2] 중국에서는 燈臺樹라 하여 과실을 咳嗽, 가지를 腰腿痛에 사용한다.[3]

본 식물의 성분에 관한 연구로는 잎에서 Nakaoki, T. 등[4]이 isoquercitrin을, Takaishi, K. 등[5]이 O-coumaric acid를, 꽃에서 Kurihara, T. 등[6]이 essential oil(cornusol 등), triterpenoids, flavonoids(quercetin 등) 등을 분리 보고 하였고, Nishino, C. 등[7]이 halleridone을 분리하였는데 이 halleridone은 P-388과 HeLa cell에 cytotoxic activity가 있다고 보고 하였고, 그 밖에 fatty acid, rutoside, gallic acid 등이 보고 되었다.[8]

저자 등은 천연 phenol성 성분에 대한 화학적 연구의 일환으로 층층나무 잎의 수성 acetone 추출물로부터 12종의 phenol성 성분을 단리하여 그 화학구조를 동정하였기에 보고한다.

실험방법

실험재료 - 1992년 5월 충북대학교 구내에 식재되어 있는 층층나무의 잎을 채집하여 정확히 감정 후 세절하여 사용하였다.

기기 및 시약 - 융점은 Swiss B chi사의 Model 510-K 미량융점측정기를 사용하였으며 보정하지 않았다. *IR spectrum*은 Perkin-Elmer spectrophotometer(Model LE 599, U.K.), UV spectrum은 Shimadzu사의 UV-240 spectrophotometer로 측정하였다. ^{1}H-NMR(200, 300MHz) 및 ^{13}C-NMR(50, 70MHz) spectrum은 Bruker(AM 200, 500, Germany), Varian-Gemini spectrometer, Varian unity 300 spectrometer로 측정 하였으며 chemical shift는 TMS를 내부 표준물질로 하는 δ치(ppm)로 나타내었고, 결합정수는 Hz로

표시했다. Column chromatography는 Sephadex LH-20(20-100μ, Pharmacia Fine Chemical Co., Ltd.), Cosmosil 75 C_{18}-OPN(42-105μ, Nacalaitesque Co., Ltd.), TSK-gel Toyopearl HW 40F(30-60μ, Tosoh Co.), MCI-gel CHP 20P(75-150μ, Mitsubishi Chemical Industries Co., Ltd.), Avicel cellulose(Sigma)를 사용했다. TLC는 Kieselgel 60 F254 plate(0.2mm, 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), n-butanol-pyridine-water(6:4:3), acetonitrile-water(85:15)] 및 cellulose F_{254} plate(0.1 mm, Merck) [용매: 2% AcOH, *n*-butanol-pyridine-water(6:4:3)]를 이용하였고, 검출은 1% ethanol성 $FeCl_3$시약(phenolic compound), 10% H_2SO_4시약(sugar 및 각종 methylether) 및 UV Lamp 254, 356 nm)를 사용하였으며, 시약 및 용매는 분석용 특급 또는 1급 시약을 사용하였다.

추출 및 분리 - 신선한 층층나무 잎 8.0 kg을 세절하여 80% 수성 acetone으로 실온에서 4회 반복 추출하였다. 추출액은 감압하에서 acetone을 유거하고 생성되는 침전을 여과하여 제거한 후 여액을 재차 농축하여 Sephadex LH-20 column(9 cm × 50 cm)에 걸어 H_2O-MeOH-$(CH_3)_2CO$를 gradient로 순차적으로 용출시켜 TLC로 monitoring하면서 3개의 fraction으로 분획하였다. Fraction 1은 Sephadex LH-20(H_2O-MeOH, EtOH), Cosmosil 75 C_{18}-OPN(H_2O-MeOH), TSK-gel Toyopearl HW 40F(H_2O-MeOH), MCI-gel CHP 20P(H_2O-MeOH) 등의 column chromatography를 반복 실시하여 compound **1**(550 mg), compound **2**(350 mg), compound **9**(268 mg), compound **11**(3.5 g)을 단리하였다. Fraction 2는 MCI-gel CHP 20P(H_2O-MeOH), Sephadex LH-20(H_2O-MeOH, EtOH), Cosmosil 75 C_{18}-OPN(H_2O-MeOH), TSK-gel Toyopearl HW 40F(H_2O-MeOH), Avicel cellulose(2% AcOH) 등의 column chromatography를 반복 실시하여 compound **3**(430 mg), compound **5**(268 mg), compound **8**(250 mg), compound **12**(250 mg)을 단리하였다. Fraction 3은 Sephadex LH-20(H_2O-MeOH, EtOH), Cosmosil 75 C_{18}-OPN(H_2O-MeOH), TSK-gel Toyopearl HW 40F(H_2O-MeOH) 등의 column chromatography를 반복 실시하여 compound **4**(155 mg), compound **6**(225 mg), compound **7**(120mg), compound **10**(350 mg)을 단리하였다.

Compound 1 (gallic acid) - 무색침상결정(H_2O), $FeCl_3$ test: 청남색, mp 270-272°, IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1,650(COO), ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 7.12 (2H, s, galloyl H).

Compound 2 (1-O-galloyl-β-D-glucose) - 무색침상결정(H_2O), $FeCl_3$ test: 청남색, mp 205°, ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 5.68 (1H, d, *J*=8 Hz, glc-1), 7.16 (2H, s, galloyl H)

Compound 3 (1,6-di-O-galloyl-β-D-glucose) - 무색침상결정(H_2O), $FeCl_3$ test: 청남색, mp 203-205°, ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 4.36 (1H, dd, *J*=4, 12 Hz, glc-6), 4.60 (1H, dd, *J*=2, 12 Hz, glc-6), 5.72 (1H, d, *J*=8 Hz, glc-1), 7.12, 7.16 (each 2H, s, galloyl H)

Compound 4 (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) - 담황색 무정형 분말(H_2O), $FeCl_3$ test: 청남색, $[\alpha]_D^{23}$ +32.0°(c=0.6, acetone), ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 5.44(1H, t, *J*=8Hz, glc-2), 5.64(1H, t, *J*=8Hz, glc-3), 6.10(1H, d, *J*=8Hz, glc-1), 7.02, 7.10, 7.12(each 2H, s, galloyl H).

compound 5 (1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose) - 무색 침상결정(H_2O), $FeCl_3$ test: 청남색, mp 229-232°, ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 4.41 (1H, dd, *J*=6, 12 Hz, glc-6), 4.63 (1H, dd, *J*=2, 12 Hz, glc-6), 5.27 (1H, t, *J*=8 Hz, glc-2), 5.98 (1H, d, *J*=8 Hz, glc-1), 7.09, 7.11, 7.16 (each 2H, s, galloyl H).

Compound 6 (3,4,6-tri-O-galloyl-D-glucose) - 황갈색 무정형분말(H_2O), $FeCl_3$ test: 청남색, $[\alpha]_D^{25}$ -77.4°(c=1.1, MeOH), mp 194-196o, ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 4.20(dd, *J*=4, 12 Hz, glc-6), 4.40(d, *J*=12 Hz, glc-6), 4.87(d, *J*=8 Hz, glc-β-1), 5.36, 5.41(each t, *J*=9 Hz, glc-4), 5.50(d, *J*=4Hz, glc-α-1), 5.70(t, *J*=8 Hz, glc-3), 7.04, 7.05, 7.07, 7.16, 7.17(6H in total, s, galloyl H). ^{13}C-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 63.5(glc-6),

68.6(70.0, 72.0, 72.8, 74.0, 74.6, 75.9 (glc-2, 3, 4, 5), 93.6(α-glc-1), 98.3(β-glc-1), 110.1(galloyl 2, 6), 120.8, 121.5(galloyl 1), 138.8, 139.1(galloyl 4), 145.8(galloyl 3, 5), 165.9, 166.3, 166.5(-COO-).

Compound 2, 3, 4, 5, 6의 산 가수분해 - Compound 2, 3, 4, 5, 6을 각각 5% H_2SO_4용액에 녹여 90°로 5시간 가열한 후 반응액을 $BaCO_3$로 중화하였다. 석출되는 염을 여과하여 제거하고 얻어진 여액을 ethylacetate로 분획하였다. Ethylacetate분획에서 gallic acid를, 물 분획에서는 D-glucose를 표품과 함께 TLC를 실시하여 확인하였다.

Compound 6의 methylation - Compound 6을 dry acetone 중에서 $(CH_3)_2SO_4$와 K_2CO_3 80°에서 1시간 30분 환류냉각시켜 methylation 시킨 후, 반응액은 무기염을 제거하고 여액을 완전히 농축한 뒤 silicagel column chromatography [benzene-acetone(9:1, v/v)]를 실시하여 methyl ether 6a 및 6b를 얻었다. 6a: ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 5.66(1H, t, J=10 Hz, glc-3), 5.51(1H, t, J=10 Hz, glc-4), 4.70(1H, dd, J=6, 14 Hz, glc-6), 4.35 (2H, m, glc-5, 6), 6b: ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 5.55(1H, t, J=7Hz, glc-3), 5.50(1H, t, J=7Hz, glc-4), 4.67(1H, dd, J=4, 13 Hz, glc-6), 4.35(1H, d, J=13 Hz, glc-6).

Compound 7(eugeniin) - 담황색 무정형 분말, $FeCl_3$ test: 청남색, $[\alpha]_D^{22}$+43.9°(c=1.0, acetone), ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 3.89(1H, d, J=13 Hz, glc-6), 4.53(1H, dd, J=6, 9 Hz, glc-5)), 5.24(1H, d, J=9 Hz, glc-4), 5.39(1H, dd, J=6, 13 Hz, glc-6), 5.62(1H, t, J=9 Hz, glc-2), 5.86(1H, t, J=9 Hz, glc-3), 6.22(1H, t, J=9 Hz, glc-1), 6.50, 6.67(each 1H, s, hexahydroxydiphenoyl H), 6.98, 7.01, 7.12(each 2H, s, galloyl H).

Compound 7의 methylation 및 alkali 가수분해 - Compound 7(50mg)을 compound 6에서와 같은 방법으로 methylation시켜 얻어진 methyl ether를 MeOH(1 ml)에 용해하고 10% NaOH를 가해 90°에서 1시간 가열하였다. 반응액은 농축 후 산성이 될 때까지 1N-HCl을 가하여 ether로 3회 반복 추출 하였다. 추출한 ether층은 물로 세척한 후 Na_2SO_4로 탈수시켜 감압 농축한 뒤, MeOH에 녹여 ether성 CH_2N_2로 0°에서 1시간 처리한 뒤 농축하여 silicagel column chromatography [benzene-acetone(20:3), v/v)]를 실시하여 methyl 3,4,5-trimethoxybenzoate(7a, 5mg) 및 dimethyl-(S)-hexamethoxydiphenoate(7b, 6mg)[$[\alpha]_D^{22}$ −23.7° (c=0.6, acetone)]를 얻었다.

Compound 7의 부분가수분해 - Compound 7을 MeOH-water (1:1) 2 ml에 녹여 수욕상에서 환류 냉각 하면서 4시간 가열한 뒤, 반응액을 냉각 후 농축시켜 Sephadex LH-20으로 column chromatography(water-MeOH)를 실시하여 gallic acid(1)와 4,6-(S)-hexahydroxydiphenoyl-D-glucose(7c)를 얻었다. 7c: ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 4.50-4.90(3H, br d, glc-1, 2, 3), 5.12(1H, m, glc-4), 4.35(1H, m, glc-5), 5.18(1H, m, glc-6), 3.50-4.00(1H, m, glc-6), 6.59, 6.68(each 1H, s, hexahydroxydiphenoyl H).

Compound 8(gemine D) - 담황색 무정형분말, $FeCl_3$ test: 청남색, $[\alpha]_D^{22}$ +40.6° (c=0.6, acetone). ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 6.46, 6.64(each 1H, s, hexahydroxydiphenoyl H), 7.04(2H, s, galloyl H).

Compound 8의 부분 가수분해 - Compound 8을 water-MeOH(1:1) 2 ml에 녹여 수욕상에서 환류냉각하면서 4시간 가열한 뒤 반응액을 냉각 후 농축시켜, Sephadex LH-20로 column chromatography(water-MeOH)를 실시하여 ellagic acid(8a) 및 3-O-galloyl-D-glucose(8b)를 얻었다. 8b: 담황색 무정형분말, ^{1}H-NMR(acetone-d_6+D_2O) δ: 3.43(t, J=9 Hz, β-glc-2), 4.69(d, J=9 Hz, β-glc-1), 5.14(t, J=9 Hz, β-glc-3), 5.22(d, J=4 Hz, α-glc-1), 5.38(t, J=9 Hz, α-glc-3), 7.16(2H, s, galloyl H).

Compound 8의 methylation - Compound 8을 compound 7에서와 같이 methylation 시킨 후 반응액은 무기염을 제거하고 여액을 완전히 농축한 뒤 silicagel column chromatography [benzene-acetone(9:1, v/v)]를 실시하여 methyl ether 8c 및 8d를 얻었다. 8c: ^{1}H-NMR(acetone-d_6) δ 7.29(2H, s, galloyl H), 6.92, 6.71(each 1H,

s, hexahydroxydiphenoyl H), 5.28(1H, d, J=3.5 Hz, glc-1), 5.51(1H, t, J=10 Hz, glc-3), 4.95(1H, t, J=10 Hz, glc-4), 5.26(1H, dd, J=7, 13 Hz, glc-6), 8d: 1H-NMR(acetone-d_6) δ 7.29(2H, s, galloyl H), 6.93, 6.69(each 1H, s, hexahydroxydiphenoyl H), 4.75(1H, d, J=8 Hz, glc-1), 5.33(1H, t, J=10 Hz, glc-3), 4.98(1H, t, J=10 Hz, glc-4), 5.24(1H, dd, J=6, 13 Hz, glc-6).

Compound 8c 및 8d의 alkali 가수분해 - 8c 및 8d를 MeOH 1 ml에 용해하고 10% NaOH 2 ml를 가해 90°에서 1시간 가열하였다. 반응액은 농축 후 산성이 될 때까지 1N-HCl을 가하여 ether로 3회 반복 추출 하였다. 추출한 ether층은 water로 세척한 후 Na_2SO_4로 탈수시켜 감압 농축한 뒤 MeOH에 녹여 ether성 CH_2N_2로 0°에서 1시간 처리한 후 농축하여 silicagel column chromatography [benzene-acetone(20:3, v/v)]를 실시하여 methyl-3,4,5-trimethoxybenzoate(7a) 및 dimethyl (S)-hexamethoxydiphenoate(7b) [$[\alpha]_D^{22}$ -23.7° (c=0.6, acetone)]를 얻었다.

Compound 9(quercetin) - 황색분말(H_2O), mp 311-313°(dec.), $FeCl_3$ test: 오록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색, IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3,350 (OH), 1,685(C=O), UV(nm) : λ_{max} (MeOH) 255, 370, λ_{max} (NaOMe) 321, λ_{max} ($AlCl_3$) 272, 338, 458, λ_{max} (AlCl3/HCl) 265, 359, 428, λ_{max} (NaOAc) 274, 329, 390, λ_{max} (NaOAc/H_3BO_3) 261, 388, ^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ: 6.17(1H, d, J=2 Hz, H-6), 6.39(1H, d, J=2 Hz, H-8), 6.87 (1H, d, J=8 Hz, H-5′), 7.53(1H, dd, J=2, 8 Hz, H-6′), 7.66(1H, d, J=2 Hz, H-2′), 12.4 (1H, s, C5-OH). ^{13}C-NMR(DMSO-d_6) 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 10(quercitrin) - 황색분말(H_2O), mp 180-182°, $FeCl_3$ test: 오록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색, IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3,228 (OH), 1,655(C=O), UV(nm) : λ_{max} (MeOH) 256, 350, λ_{max} (NaOMe) 270, 326, 393, λ_{max} (AlCl3) 276, 333, 430, λ_{max} (AlCl3/HCl) 272, 353, 401, λ_{max} (NaOAc) 272, 372, λ_{max} (NaOAc/H3BO3) 260, 367, ^{1}H-NMR(DMSO-d_6+D_2O) δ: 0.82 (3H, d, J=6 Hz, rha-CH_3), 5.25(1H, d, J=2 Hz, rha-1), 6.22 (1H, d, J=2 Hz, H-6), 6.40(1H, d, J=2 Hz, H-8), 6.86 (1H, d, J=8 Hz, H-5′), 7.24 (1H, dd, J=2, 8 Hz, H-6′), 7.27(1H, d, J=2 Hz, H-2′), 12.63 (1H, s, C5-OH). ^{3}C-NMR(DMSO- d_6+D_2O) δ: 157.4(C-2), 134.3(C-3), 177.8(C-4), 161.4(C-5), 98.8(C-6), 164.5(C-7), 93.8(C-8), 156.5(C-9), 104.1(C-10), 120.8(C-1), 115.6(C-2′), 145.4(C-3′), 148.6(C-4′), 115.7(C-5′), 121.0(C-6′), 101.9(C-1″), 70.1(C-2″), 70.4(C-3″), 71.3(C-4″), 70.7(C-5″), 17.6(C-6″)

Compound 11(hyperoside) - 황색분말(H_2O), mp 227-230°, $FeCl_3$ test: 오록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색, UV(nm) : λ_{max} (MeOH) 257, 362, λ_{max} (NaOMe) 272, 327, 409, λ_{max} ($AlCl_3$) 275, 331, 438, λ_{max} ($AlCl_3$/HCl) 268, 299, 366, 405, λ_{max} (NaOAc) 274, 324, 380, λ_{max} (NaOAc/H_3BO_3) 262, 298, 377, ^{1}H-NMR (DMSO-d_6+D_2O) δ: 5.33 (1H, d, J=8 Hz, gal-1), 6.18 (1H, s, H-6), 6.40(1H, s, H-8), 6.79 (1H, d, J=8 Hz, H-5′), 7.53 (1H, d, J=2, Hz, H-2′), 7.62(1H, dd, J=2, 8 Hz, H-6′) ^{13}C-NMR (DMSO-d6+D2O) δ: 156.4(C-2), 133.6(C-3), 177.5(C-4), 161.0(C-5), 98.8(C-6), 164.2(C-7), 93.8(C-8), 156.3(C-9), 104.0(C-10), 121.2(C-1′), 115.3(C-2′), 144.8(C-3′), 148.5(C-4′), 116.1(C-5′), 122.0(C-6′), 101.9(C-1″), 71.2(C-2″), 73.2(C-3″), 67.9(C-4″), 75.9(C-5″), 60.2(C-6″)

Compound 12(rutin) - 황색분말(H_2O), mp 186-188°, FeCl3 test: 오록색, Mg-HCl, Zn-HCl test: 홍색, IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}: 3,300 (OH), 1,650(COO), UV(nm) : λ_{max} (MeOH) 259, 359, max (NaOMe) 272, 327, 410, λ_{max} (AlCl3) 275, 433, λ_{max} ($AlCl_3$/HCl) 271, 300, 402, λ_{max} (NaOAc) 271, 325, 393, λ_{max} (NaOAc/H_3BO_3) 262, 298, 387, ^{1}H-NMR (acetone-d_6+D_2O) δ: 1.10 (3H, d, J=4 Hz, rha-CH_3), 4.56(1H, br s, rha-1), 5.12 (1H, d, J=8 Hz, glc-1), 6.28(1H, d, J=2 Hz, H-6), 6.52 (1H, d, J=2 Hz, H-8), 6.96 (1H, d, J=8 Hz, H-5′), 7.63(1H, dd, J=2, 8 Hz,

H-6′), 7.73 (1H, d, J=2 Hz, H-2′). ^{13}C-NMR (acetone-d_6+D_2O) δ: 158.4(C-2), 134.7(C-3), 178.4(C-4), 161.6(C-5), 99.4(C-6), 164.9(C-7), 94.5(C-8), 157.4(C-9), 104.7(C-10), 122.4(C-1′), 115.7(C-2′), 144.8(C-3′), 148.9(C-4′), 117.0(C-5′), 122.9(C-6′), sugar(17.4, 67.5, 68.8, 70.0, 70.8, 71.2, 72.7, 74.6, 75.9, 76.9, 101.4, 103.7)

Compound 10, 11, 12의 산 가수분해 - Compound **10**, **11**, **12**를 각각 5% H_2SO_4용액에 녹여 90°로 5시간 가열한 후 반응 액을 $BaCO_3$로 중화하였다. 석출되는 염을 여과하여 제거하고 얻어진 여액을 ethylacetate로 분획하였다. Ethylacetate분획에서 quercetin을, 물분획에서는 L-rhamnose(compound **10**, **12**), D-galactose (compound **11**), D-glucose(compound **12**)를 표품과 함께 TLC를 실시하여 확인 하였다.

결과 및 고찰

Compound **1**은 각종 spectral data를 표품과 비교하여 gallic acid(1)[9]로 동정하였다.

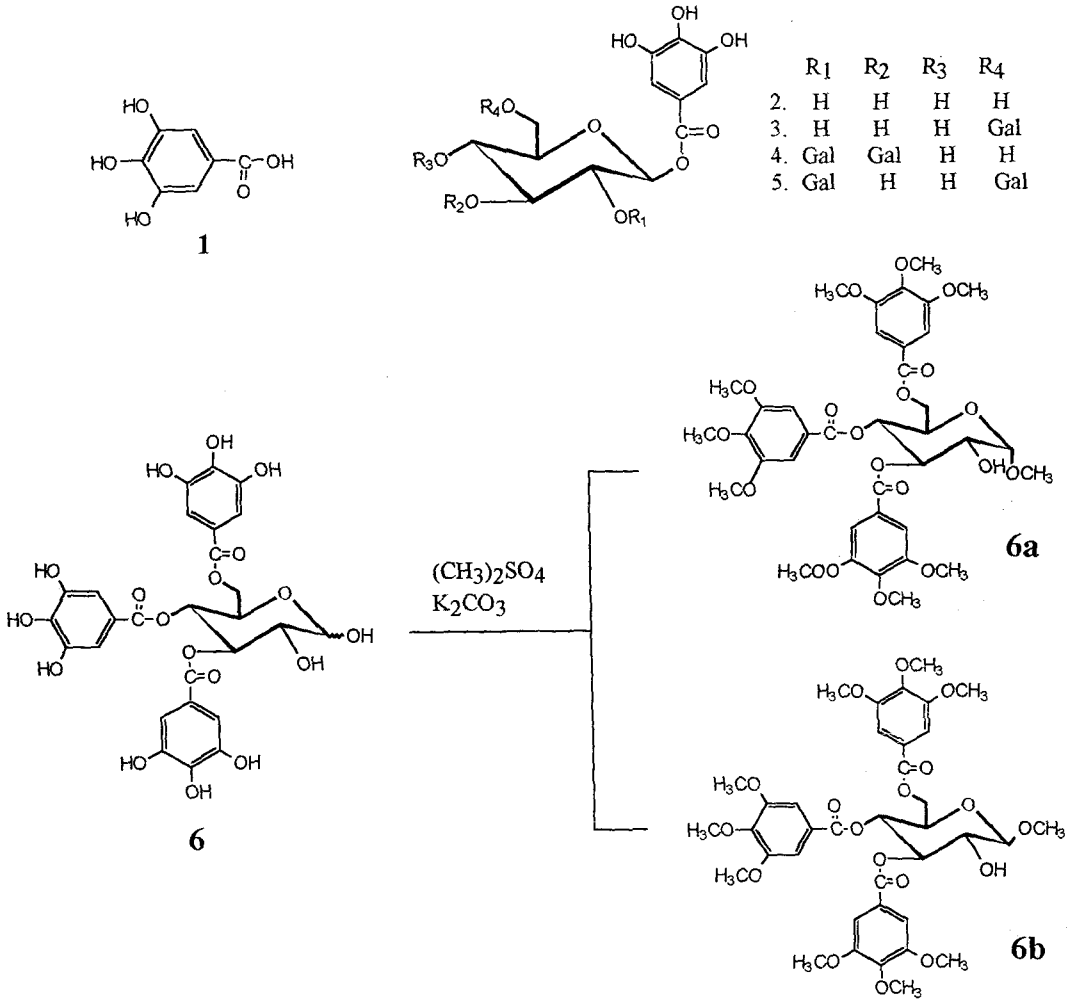
Compound **2**, **3**, **4**, **5**, **6**은 $FeCl_3$용액에 의해 모두 청남색을 나타내고 산가수분해에 의해 gallic acid(**1**)와 glucose가 얻어지므로 모두 glucose의 gallate로 추정된다. Compound **2**는 무색침상 결정으로, ^{1}H-NMR spectrum에서는 aromatic field에서 δ 7.16에 2H분의 singlet이, aliphatic field에서는 δ 5.68에 1H분의 anomeric proton signal이 J=8 Hz로 저자장 shift되어 관찰되는 것으로 보아 glucose의 anomeric center에 1개의 galloyl기가 ester결합한 것으로 추정, 표품과 co-TLC 및 ^{1}H-NMR spectrum을 비교하여 1-O-galloyl-β-D-glucose[10]라 결정 하였다.

Compound **3**은 무색침상 결정으로 ^{1}H-NMR spectrum에서는 aromatic field에서 δ 7.12, 7.16에 각각 2H분의 singlet이, aliphatic field에서는 δ 5.72에 1H분의 anomeric proton signal이 저자장 shift되어 관찰되었고, δ 4.36에 J=4, 12 Hz로 coupling하고 있는 double doublet이, 4.60 ppm에 J=2, 12 Hz로 coupling하고 있는 double doublet이 각각 저자장 shift되어 관찰되었다. 따라서 compound **3**은 glucose의 1, 6 위에 galloyl기가 ester결합한 화합물로 추정되었고, anomeric center의 배위는 anomeric proton signal(δ 5.72)이 J=8 Hz로 큰것으로 보아 β-위로 결정했다. 이상의 결과로 compound **3**은 1,6-di-O-galloyl-β-D-glucose[11]라 추정하고 표품과 co-TLC 및 ^{1}H-NMR spectrum을 비교하여 동정하였다.

Compound **4**는 담황색 무정형 분말로 ^{1}H-NMR spectrum에서는 aromatic field에 있어서 δ 7.02, 7.10, 7.12에 각각 2H분의 singlet이 관찰되고, aliphatic field에 있어서는 glucose의 methine 및 methylene proton signal 중 δ 6.10, 5.64, 5.44의 proton signal이 저자장 shift하여 관찰된다. 따라서 compound **4**는 glucose의 이들 위치에 galloyl기가 결합된 glucose의 trigallate로 추정되며, 이들은 coupling pattern으로 보아 glucose의 1, 2, 3위로 결정하였다. 이상의 결과를 종합하여 compound **4**는 1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose[12]로 결정, 표품과 co-TLC 및 spectrum data를 직접 비교하여 동정 하였다.

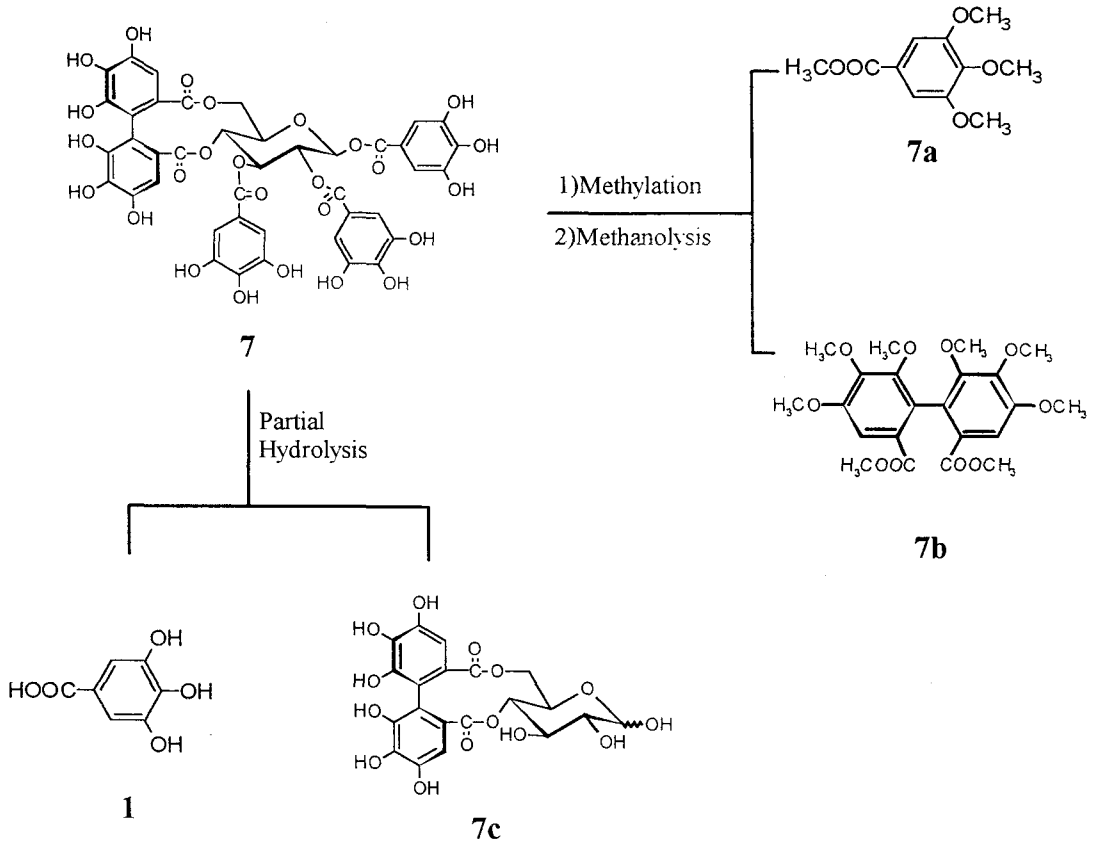
Compound **5**는 무색 침상결정으로, ^{1}H-NMR spectrum에서 aromatic field에 δ 7.09, 7.11, 7.16에 각각 2H분의 singlet이 나타났다. Aliphatic field에서는 1개의 hexose에 기인하는 모두 7H분의 methine 및 methylene proton signal이 관찰되고, 이들중 δ 5.98(1H, d, J=8 Hz), δ 5.27(1H, t, J=8 Hz), δ 4.63(1H, dd, J=2, 12 Hz) 및 δ 4.41(1H, dd, J=6, 12 Hz) 등 4개의 proton signal이 저자장 shift하여 관찰되었다. 따라서 compound **5**는 trigalloyl glucose로 추정 하였으며 galloyl 기의 결합위치에 관해서는 aromatic field에서 저자장 shift하고 있는 4개의 proton signal의 pattern으로 보아 각각 glucose의 1, 2, 6위에 귀속되어 compound **5**는 1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose[13]로 결정하고 표품과 co-TLC 및 ^{1}H-NMR spectrum을 비교하여 동정하였다.

Compound **6**은 황갈색 무정형 분말로 ^{1}H-NMR spectrum은 매우 복잡하나 aromatic field에 7.04-7.17 사이에 3개의 galloyl기에 의한 total 6H분의 proton signal이 관찰되고, aromatic proton signal이 저자장 shift하여 관찰되지 않는 점으로 미루어, 이 화합물은 glucose의



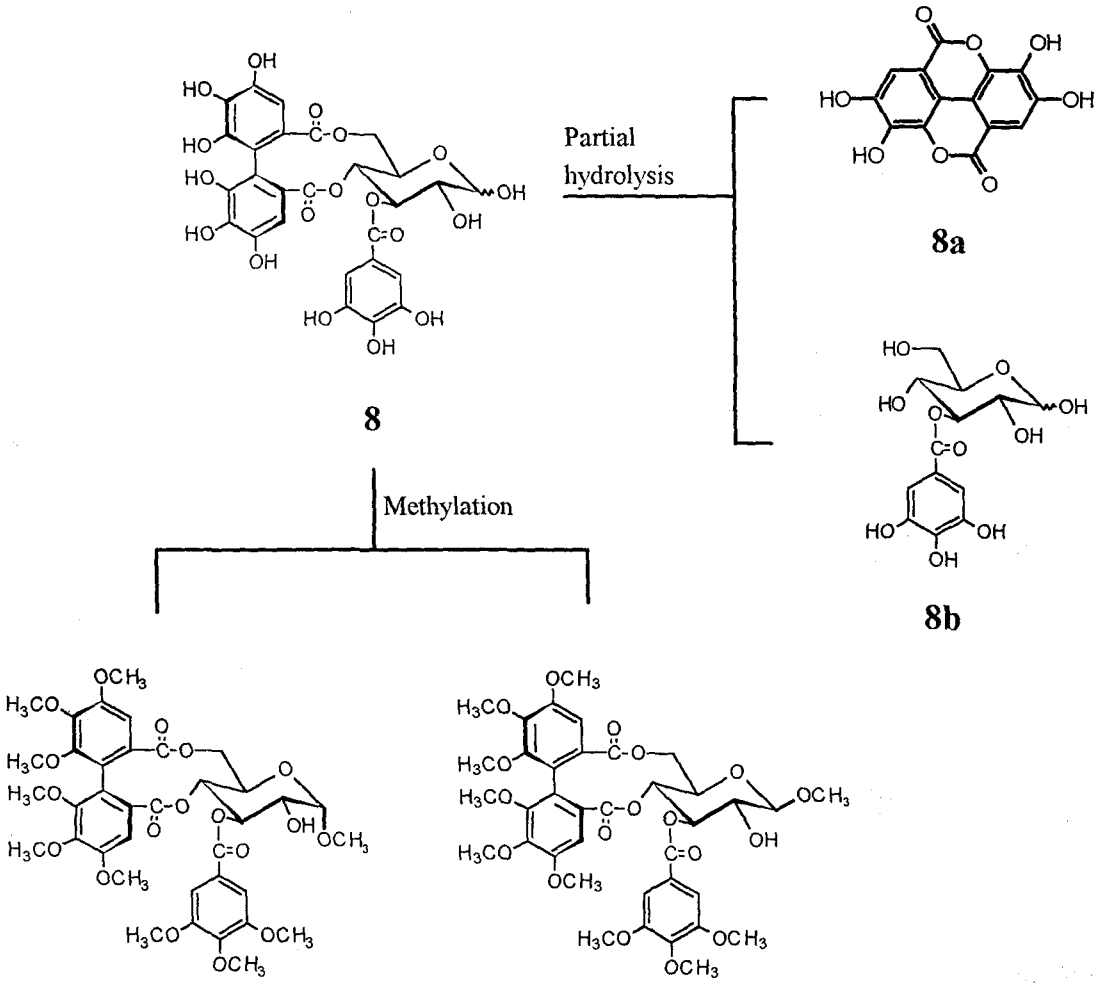
anomeric center가 free인 trigalloyl glucose의 α- 및 β-체의 혼합물로 추정된다. galloyl기의 결합위치를 확인하기 위하여 compound **6**을 dry acetone 중에서 $(CH_3)_2SO_4$ 및 K_2CO_3로 methylation하여 methyl ether 6a 및 6b를 얻었다. 6a의 ^{1}H-NMR spectrum에서 δ 5.66과 δ 5.51의 proton signal이 저자장 shift하여 J=7 Hz로 coupling하고 있어 각각 glucose의 3, 4 위에, δ 4.70의 geminal proton이 glucose의 6 위에 귀속되고, 6b의 ^{1}H-NMR spectrum에서 저자장 shift하여 관찰되는 geminal proton signal [δ 4.67(1H, dd, J=4, 13 Hz), δ 4.35(1H, d, J=13 Hz)]이 glucose의 6 위에 귀속됨에 따라 compound **6**은 glucose의 3, 4, 6 위에 galloyl기가 결합한 화합물로 추정하였다. 이상의 결과를 종합하여 compound **6**은 3, 4, 6-tri-O-galloyl-D-glucose[14]로 결정, 표품과 co-TLC 및 각종 spectrum data를 직접 비교하여 동정하였다.

Compound **7**은 담황색 무정형 분말로 $FeCl_3$ test에서 청남색을 나타내었다. ^{1}H-NMR spectrum에서 aromatic field에 δ 6.98, 7.01, 7.12에 3개의 galloyl기에 기인하는 각각 2H분의 singlet이 δ 6.50, 6.67에 1개의 hexahydroxydiphenoyl(HHDP) group에 기인하는 각각 1H분의 singlet이 관찰 되고 aliphatic field에서는 1개의 herxose에 기인하는 7H분의 methine 및 methylene proton signal이 모두 저자장 shift되어 관찰 된다. 각 acyl기를 확인하기 위하여 com-



pound 7을 methylation시킨 후 alkali 가수분해하고 재차 methylation시켜 methyl 3,4,5-trimethoxybenzoate(7a) 및 dimethyl (S)-hexamethoxydiphenoate(7b)를 얻었다. 이상의 결과로 compound 7은 한개의 hexose에 3개의 galloyl기, 한개의 (S)-HHDP기가 결합된 화합물로 추정되었다. 각 acyl기의 결합위치 및 hexose의 종류를 확인하기 위하여 compound 7을 부분 가수분해 한 결과 gallic acid(1)와 4,6(S)-HHDP-D-glucose(7c)가 얻어짐에 따라 glucose의 1, 2, 3 위에 galloyl기 4, 6 위에 (S)-HHDP기가 결합되어 있는 것으로 추정되었다. Anomeric center의 배위는 anomeric proton signal(δ 6.22)의 coupling constant가 9 Hz로 큰 것으로 보아 위로 결정했다. 이상의 결과로 compound 7을 1, 2, 3-tri-O-galloyl-4, 6-(S)-HHDP-β-D-glucose (eugeniin)[15]으로 동정하였다.

Compound 8은 담황색 무정형 분말로 $FeCl_3$ test에서 청남색을 나타내었고 ^{1}H-NMR spectrum에서 δ 7.04에 1개의 galloyl기에 기인하는 2H분의 singlet이, δ 6.46 및 δ 6.64에 1개의 HHDP기에 기인하는 각각 1H분의 singlet이 관찰되어 분자내에 1개의 galloyl기 및 1개의 HHDP기의 존재가 추정된다. 이와 같은 사실은 compound 8의 산 가수분해에 의해 ellagic acid(8a) 및 3-O-galloyl-D-glucose(8b)가 얻어짐에 따라 확인 되었다. Compound 8을 methylation시켜 methyl ether 8c 및 8d를 얻었다. 8c 및 8d의 ^{1}H-NMR spectrum을 검토한 결과 anomeric proton signal이 각각 δ 5.28[(1H, d, J=3.5 Hz), 8c], δ 4.75[(1H, d, J=8 Hz), 8d]에 나타나는 것으로 보아 8c 및 8d는 α- 및 β-anomer라고 추정되었다. 또 8c의 ^{1}H-NMR spectrum에서 δ 5.51과 δ 4.95의 proton signal이 J=10 Hz로 저자장 shift하여 나타나고 8d의 ^{1}H-NMR spectrum에서 δ 5.33과 δ 4.98의 proton signal이 J=10 Hz로 저자장 shift하여 관찰되며, 이들은 각기 coupling pattern으로 보아 8c, 8d에 있어서 glucose의 3, 4 위에 해당한다. 또 8c 및 8d의 ^{1}H-NMR spectrum에서 저자장 shift하고 있는 δ 5.26[(1H, dd,



8 8a 8b

8c 8d

J=7, 13 Hz), 8c], 5.24[(1H, dd, J=6, 13 Hz), 8d]의 geminal proton signal이 glucose의 6 위에 귀속된다. 따라서 HHDP기는 glucose의 4, 6 위에 결합하고 있는 것으로 결정했다. HHDP기의 atrop성은 **8c** 및 **8d**를 alkali 가수분해하고 재차 methylation하여 얻어진 dimethyl hexamethoxydiphenoate의 선광도가 '-'로 S-configuration을 갖는 것으로 결정했다. 이상의 결과로 compound **8**은 3-O-galloyl-4,6-(S)-HHDP-D-glucose(gemine D)[16]로 결정, 표품과 co-TLC 및 각종 spectral data를 비교하여 동정하였다.

Compound **9** 및 compound **12**는 확인 반응 및 각종 spectral data의 해석으로 compound **9**는 quercetin[17,18], compound **12**는 quercetin-3-O-rutinoside(rutin)[19,20]으로 결정 표품과 직접 비교하여 동정하였다.

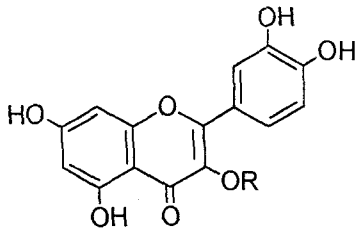
Compound **10**은 황색 분말로 $FeCl_3$ test에서 오록색, Mg-HCl 및 Zn-HCl test에서 홍색을 나타내는 등 flavonoid 확인반응에 양성을 나타내었다. ^{1}H-NMR spectrum에서 aliphatic field에서 δ0.82에 전형적인 rhamnose의 methyl기에 의한 3H분의 doublet이, δ5.25에 J=2 Hz로 coupling하고 있는 anomeric proton signal이, aromatic field에 δ6.22와 δ6.40에 각각 J=2 Hz로 coupling하고 있는 doublet이, δ6.86에 J=8 Hz의 doublet, δ7.24에 J=2, 8 Hz의 double doublet, δ7.27에 J=2 Hz의 doublet이 관찰되어 compound **10**의 aglycone 부분은 quercetin으로 추

정된다. Compound 10을 산 가수분해한 결과 rhamnose 및 aglycon으로 quercetin이 생성되었다. 따라서 compound 10은 quercetin에 rhamnose가 1개 ether 결합한 것으로 추정하였다. Rhamnose의 결합위치는 UV spectrum에서 NaOMe첨가시 324 nm에 새로운 흡수대가 나타나는 것으로 보아 7위에 hydroxy기가, $NaOAc/H_3BO_3$첨가시 bathochromic shift와, $AlCl_3/HCl$첨가시 보다 $AlCl_3$첨가시 bathochromic shift가 일어난 것으로 보아 B환에 free dihydroxyl group이 존재한다는 것을 알 수 있었고[19], ^{13}C-NMR에서 2위 및 4위의 C signal이 저자장 shift되고, 3위의 C signal이 약간 고자장 shift되는 등 glycosylation shift[20]되는 것으로 보아 3위로 결정하였다. Anomeric center의 배위는 ^1H-NMR spectrum에서 anomeric proton signal(δ5.25)의 coupling constant가 2Hz로 α- 위로 결정했다. 이상의 결과로 compound 6을 quercetin-3-O-α-L-rhamnoside (quercitrin)[18]라 결정하고 표품과 co-TLC, 1H-NMR, ^{13}C-NMR spectrum을 비교하여 동정하였다.

Compound 11은 황색 분말로 $FeCl_3$ test에서 오록색, Mg-HCl 및 Zn-HCl test에서 홍색을 나타내는 등 flavonoid 확인반응에 양성을 나타내었다. ^1H-NMR spectrum에서 aliphatic field에 1개의 hexose에 기인하는 모두 7H분의 methine 및 methylene proton signal이 관찰되고, aromatic field에서 δ6.18과 δ6.40에 각각 J=2 Hz로 coupling하고 있는 doublet이, δ6.79에 J=8 Hz, 7.53 ppm에 J=2 Hz, 7.62 ppm에 J=2, 8 Hz로 각각 coupling하고 있는 signal이 관찰되어 이 화합물은 compound 10에서와 같이 분자내에 quercetin의 존재가 추정된다 . 또, compound 11을 산 가수분해한 결과 quercetin과 galactose를 얻었다. 이상의 결과로 compound 11은 quercetin에 1개의 galactose가 glycoside 결합한 것으로 추정하였다. Galactose의 결합위치는 UV spectrum에서 NaOMe첨가시 327 nm에 새로운 흡수대가 나타나는 것으로 보아 7위에 hydroxy기가, $NaOAc/H_3BO_3$첨가시 bathochromic shift와, $AlCl_3/HCl$첨가시 보다 $AlCl_3$첨가시 bathochromic shift가 일어난 것으로 보아 B환도 free dihydroxyl group이 존재한다는 것을 알수 있었고, 또, ^{13}C-NMR에서 2위 및 4위의 carbopn signal이 각각 9 및 2 ppm 저자장 shift되고, 3위의 carbon signal이 2 ppm 고자장 shift되는 등 glycosylation shift되는 것으로 보아 galactose의 결합 위치는 3위로 결정하였다. Anomeric center의 배위는 ^1H-NMR spectrum에서 anomeric proton signal(5.33 ppm)의 coupling constant가 J=8 Hz으로 β-위로 결정했다. 따라서, compound 11을 quercetin-3-O-β-D-galactoside(hyperoside)[20,22]라 결정하고 문헌 data와 ^1H-NMR, ^{13}C-NMR spectrum을 비교하여 동정하였다.

결 론

신선한 층층나무의 잎을 80% 수성 acetone으로 추출하여 얻은 엑스를 각종 reverse phase column chromatography를 실시하여 12종의 phenolic compounds를 단리하였다. 이들 화합물은 물리항수, ^1H- 및 ^{13}C-NMR, UV, IR 등의 spectral data의 해석, 분해반응, 표품과 비교시험 등의 결과 gallic acid(1), 1-O-galloyl-β-D-glucose(2), 1,6-di-O-galloyl-β-D-glucose(3), 1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose(4), 1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose(5), 3,4,6-tri-O-galloyl-D-glucose(6), eugeniin(7), gemine D(8), quercetin(9), quercitrin(10), hyperoside(11), rutin(12)으로 동정하였다. 이중 주성분은 hyperoside(11)로 3.5g(0.04%)이었고, gallic acid 및 quercetin을



R	
9	H
10	Rhamnose
11	Galactose
12	Rutinose

제외한 모든 성분은 층층나무에서는 처음 단리된 성분이었다.

감사의 글 - 이 연구는 1995학년도 영남대학교 학술연구조성비의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

〈1995년 9월 23일 접수〉

참고문헌

1. 李昌福: 大韓 植物圖鑑, 鄕文社, p. 593 (1980).
2. 陸昌洙: 原色韓國藥用植物圖鑑, 아카데미 서적, 서울, p. 330 (1989).
3. 中國本草圖錄編輯委員會: 中國本草圖錄 卷四, 臺灣商務印書館, 中華民國, p. 144 (1989).
4. Nakaoki, T. and Morita, N.: Studies on the medicinal resources. XII. Components of the leaves of *Cornus controversa* H., *Ailanthus altissima* S. and *Ricinus communis* L., *Yakugaku Zasshi*, **78**, 558-559 (1958).
5. Takaishi, K.: The contents of coumarin analogues in red leaves of higher plants, *Phytochemistry*, **10**, 719-722 (1971).
6. Kurihara, T. and Kikuchi, M.: Studies on the constituents of flowers. IX. On the components of the flower of *Cornus controversa*, *Yakugaku Zasshi*, **98**, 969-972 (1972).
7. Nishino, C., Kobayashi, K. and Fukushima, M.: Halleridone, cytotoxic constituent from *Cornus controversa*, *J. Natural Products*, **51**, 1281-1282 (1988).
8. 宋柱澤, 鄭炫培, 奏熙成 : 韓國資源植物. 美都文化社, p. 758 (1983).
9. Saijo, R.: The chemical studies on the tannins and related compounds from the *Mallotus japonica, M. repandus* and *M. phillipinensis*. Kyushu Univ. Japan, pp. 173-175, 182 (1990).
10. Schimidt, O.T. and Schmadel, H.: Synthesen des α-glucogallins und nue synthesen des β-glucogallins, *Justus Lieig's Ann. Chem.*, **649**, 149-157 (1961).
11. Elizabeth, A.H., Raj, K.G., Sabah, M.K.A., and Edwin, H.: The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. Part 1. Naturally occuring galloyl esters, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2515-2524 (1982).
12. Lee, S.-H., Tanaka, T., Nonaka, G. and Nishioka, I.: Hydrolysable tannins from Euphortbia thymifolia, *Phytochemistry*, **29**, 3621-3625 (1990)
13. Nonaka, G.I., Nishioka, I., Nagasawa, T. and Oura, H.: Tannins and related compounds 1. Rhubarb(1), *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2862-2870 (1981).
14. Willkins, C.: Galloyl glucose derived from Heuchera cylindrica, *Phytochemistry*, **27** 2317-2318 (1988).
15. Nonaka, G., Harada, M. and Nishioka, I.: Eugeniin, a new ellagitannin from cloves, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 685-687 (1980).
16. Yoshida, T., Maruyama, Y., Okuda, T., Menon, U. and Shingu, T. : Gemin B and C, dimeric ellagitannin fdrom Geum japonicum, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4245-4248 (1982)
17. 강삼식, 신국현, 정순간, 조의환: 음양곽의 flavonoid 성분에 관한 연구, *Kor. J. Pharmacogn.*, **10**, 93 (1988).
18. Miyazaki, K., Ishizawa, S., Nagamo, S., Inoue, T. and Nagai, M.: *Shoyakugaku Zasshi*, **45**, 333 (1991).
19. Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M. B.: The Systematic Identification of the Flavonoids, Springer, New York, p. 461 (1970).
20. Agrawal, P. K.: Carbon-13 NMR of Flavonoids, Elsevier, pp. 154, 293, 336-337, 341-342 (1989).
21. Kosuge, T., Ishida, H. and Satoh, T.: Studies on antihemorrhagic substances in herb classified as hemostatics in chinese Medicine. V. On anhemorrhagic principle in Biota orientalis, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 206 (1985).
22. Kartig, T., Gruber, A. und Stachet.: Zur kenntnis des flavonoidmusters von *Asparagus officinalis, Planta Medica*, **51**, 288 (1985).