

내후성 활엽수종인 아까시나무 목질부와 현사시나무 수피의 추출성분*1

배 영 수*2 · 함 연 호*2

Extractives of the Wood of Black Locust and the Bark of Poplar as Decay-Resistant Hardwood Tree Species*1

Young-Soo Bae*2 · Yeon-Ho Ham*2

요 약

아까시나무와 현사시나무를 채취, 건조하고 아세톤-물의 혼합용액으로 추출한 후 hexane, chloroform, ethylacetate 및 물 분획으로 분류하고 동결건조하여 갈색 분말로 조제하였다. 각각의 분획은 메탄올-물 및 에탄올-헥산의 혼합용액으로 Sephadex LH-20 칼럼상에서 크로마토그래피를 수행하였다. 아까시나무의 목질부 추출성분은 (+)-leucorobinetinidin과 같은 flavan 화합물과 robtin, dihydrorobinetin 및 robinetin 등의 flavanonol 화합물을 포함하며 현사시나무의 수피 추출성분은 (+)-catechin과 naringenin, eriodictyol, sakuranetin, aromadendrin 및 taxifolin 등의 후라보노이드 화합물, 그리고 살리신 유도체인 salireposide 및 소량의 aesculin과 쿠마린산 등 다양한 종류의 페놀성 화합물로 구성되어 있었으며 aesculin은 현사시나무의 수피 조성분에서는 아직 우리 나라에서 보고되지 않았다. 단리된 페놀성 성분의 구조 분석을 위하여 NMR 및 FAB-MS 분석을 수행하였다.

ABSTRACT

Black locust(*Robinia pseudoacacia*) and poplar(*Populus alba* × *glandulosa*) trees were collected, extracted with acetone-H₂O(7:3, v/v) after drying, fractionated with hexane, chloroform and ethylacetate, and freeze dried to get some brown powder. Each fraction of the powder was chromatographed on a Sephadex LH-20 column using a series of aqueous methanol and ethanol-hexane mixture as eluting solvents. The wood extractives of black locust contained (+)-leucorobinetinidin as flavan, robtin as flavanone and dihydrorobinetin as flavanonol, and robinetin as flavonol. The poplar bark extractives contained various kinds of phenolic compounds : (+)-catechin as flavan, naringenin, eriodictyol, sakuranetin, aromadendrin and taxifolin as flavanonol, salireposide as salicin derivative, and minor compounds such as aesculin and *p*-coumaric acid. However, aesculin has not been reported as a constituent of the poplar bark in Korea yet. NMR and FAB-MS analyses were done to elucidate the structures of isolated phenolic constituents.

*1 접수 2000년 4월 1일, 채택 2000년 8월 7일

이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

*2 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Keywords : Black locust, poplar, Sephadex LH-20, bark, flavan, flavanonol, flavonol, salicin derivative, aesculin

1. 서론

국내에 자생하고 있는 활엽수 가운데 내후성이 우수한 수종들이 많이 있으며 아까시나무가 그중의 하나이고 현사시나무의 수피 추출물도 우수한 항균 및 항충성을 지니는 것으로 알려져 있다(이·김, 1990).

현사시나무는 국내 어디서나 잘 자라는 속성수로서 이 수종의 수피부 열수 추출물은 우수한 항균성을 지니는 것으로 보고되었다. 그러나 체계적인 연구가 이루어진 것은 없는 실정이며 아까시나무 또한 전국적으로 분포하며 토양 중에 질소를 고정하는 수종의 하나로 과거 인공조림용으로 많이 식재되었으며 목재수종 중 내후성이 가장 큰 수종으로 분류되고 있다(Roux & Paulus, 1962; Schultz *et al.*, 1995). 그러나 왕성한 맹아력으로 번식이 급속하여 다른 수목의 생장을 저해하므로 근래에는 식재를 기피하고 산림 내의 퇴출수종으로 지목되고 있으나 양봉에서는 중요한 밀원이 되고 있다.

본 연구에서는 국내에 자생하고 있는 활엽수종들 중 내후성이나 항균력이 우수한 것으로 알려져 있는 아까시나무와 현사시나무의 추출성분을 대상으로 중요한 화학성분을 분리하고 그들의 구조를 구명함으로써 금후 이들의 생리활성 조사를 통하여 이 성분들을 기능적으로 이용할 수 있는 기초자료를 마련하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시재료

아까시나무(*Robinia pseudoacacia*)는 1998년 3월 강원대학교 구내림에서 수령 13년생의 수목을

벌채하였고, 현사시나무(*Populus alba* × *glandulosa*)도 강원대학교 구내림에서 1998년 10월 수령 18년생의 수종을 벌채하여 공시재료로 사용하였다.

공시목들은 즉시 박피하여 수피와 목질부로 구분하여 실험실에서 약 2주간 건조한 후 수피와 목질부를 10mesh 정도로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

2.2 추출물의 조제

기건된 아까시나무 목질부 분말 1.5kg, 현사시나무 수피 1.5kg을 각각 10 l의 유리용기에 넣고 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용매로 약 3일간 추출하였고 이 과정을 3회 반복한 후 추출액은 진공회전 농축기로 농축하였다.

농축되어 유기용매가 모두 증발된 추출물은 분획 깔때기 상에서 먼저 헥산용성 화합물을 분리하였으며 다음에 클로로포름용성, 에틸아세테이트용성 및 수용성 부분으로 순차적으로 분리하였다. 각 추출물 분획은 다시 농축하여 냉동한 후 동결건조기를 이용하여 분말로 조제하여 저장하였다. 각 수종으로부터 얻어진 동결건조된 추출물의 양은 Table 1과 같다.

2.3 칼럼크로마토그래피

각 시료로부터 조제된 추출물의 클로로포름 및 에틸아세테이트용성과 수용성 분획에 대한 칼럼크로마토그래피를 실시하여 순수한 단일 화합물을 분리하였다. 사용된 칼럼은 직경 4.5, 3, 1.5 및 1cm, 길이 60 및 100cm의 것을 사용하였으며 충진물질로는 Sigma사의 Lipophilic Sephadex LH-20이 사용되었고 용리용매는 메탄올:물(4:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3 등, v/v) 혼합액과 에탄올:헥

Table 1. The amount of each fraction obtained from experimental sample. (Unit: g)

| Species | Sample weight | Hexane soluble fraction | CHCl ₃ soluble fraction | EtOAc soluble fraction | Water soluble fraction | Residue | Total |
|---|---------------|-------------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|---------|-------|
| <i>Robinia pseudoacacia</i> | 1.5kg(X)* | - | 9.0 | 31.7 | 43.7 | - | 84.4 |
| <i>Populus alba</i> × <i>glandulosa</i> | 3kg(B)* | 1.1 | 10.5 | 149.1 | 271.0 | 71.0 | 520.7 |

*X = xylem, B = bark

산(4:1, 3:1, 2:1 등, v/v) 혼합액을 사용하였다. 칼럼을 통하여 떨어지는 용액은 Gilson사의 FC204 Fraction Collector를 사용하여 순차적으로 25ml의 시험관에 모았으며 유리칼럼이 무색이 될 때까지 용리용매로 분리하여 무색에 가까워지면 아세톤:물(1:1, v/v)을 사용하여 칼럼을 세척하였다.

2.4 박층크로마토그래피

시험관에 일정량으로 모아진 화합물의 순도를 확인하기 위하여 박층크로마토그래피(TLC)를 실시하였다. 박층크로마토그래피에 사용된 박판은 Merck사의 DC-Plastikfolien Cellulose F였으며, 전개용매로는 *t*-butanol(*t*-BuOH)-acetic acid(AcOH)-H₂O(3:1:1, v/v, TBA(solvent A))와 6% AcOH(solvent B)를 사용하였고 TBA는 주로 에틸아세테이트용성 화합물에 그리고 6% AcOH는 주로 수용성 화합물에 대하여 적용하였다. TLC 상에 전개된 화합물은 UV 램프(254와 365nm)로 관찰하였고, 발색제로 vanillin-HCl-ethanol(60:0.15:6) 용액을 분무 후 가열건조하여 나타나는 색을 관찰하였다.

또한 단리화합물의 순도를 확인하기 위하여 solvent A와 solvent B를 직각으로 교차하여 전개하는 2차원 박층크로마토그래피(2D-TLC)를 실시하였다.

2.5 재결정법

추출액을 농축하거나 칼럼크로마토그래피를 수행하는 과정 중 결정 또는 침전물이 생기는 경우에는 순수한 결정성 화합물을 얻기 위하여 재결정법을 실시하였다.

추출액 또는 용출액으로부터 분리된 결정이나 침전물은 혼합물이 많이 섞여 있으므로 순수한 단일 화합물을 얻기 위하여 이들이 용해될 수 있는 미량의 아세톤 또는 아세톤-물 혼합액을 넣어 모두 완전히 용해시킨 후 증류수를 첨가하고 침전이 형성되도록 냉장실에 1~2일간 방치하였다. 이러한 조작을 3~4회 반복적으로 수행함으로써 순수한 결정성의 화합물을 얻었다.

2.6 단리화합물의 구조분석

각 시료 추출물로부터 단리된 화합물의 구조를 결정하기 위하여 핵자기공명(NMR) 분광분석을, 그리고 분자량을 확인하기 위하여 질량분석을 실시하였다.

NMR 분석을 위해 사용된 기기는 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker DTX 400MHz NMR 기기를 이용하였으며 분석용매로는 methanol-d₄ 및 acetone-d₆를 사용하였다. ¹H-NMR과 ¹³C-NMR 스펙트럼 및 COSY, HETCOR, NOE, DEPT 등의 2차원 NMR 스펙트럼을 분석하여 단리화합물의 구조를 결정하였다.

단리된 화합물의 정확한 분자량 측정을 위하여 강원대학교 공동실험실습관의 Micromass사 Autospec M363 질량분석기기를 사용하였으며 EI-MS와 FAB-MS 분석을 실시하였다.

2.7 수증별 화합물의 단리

2.7.1 아까시나무(*Robinia pseudoacacia*)

아까시나무 목질부 크로로포름용성 분획 추출물 9.02g을 MeOH-H₂O(5:1)의 용매로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 분획으로 나누었으며, 각 분획은 RXC로 명명하였고 동결건조하여 얻은 추출물의 양은 RXC-1은 437mg, RXC-2는 3.56g, RXC-3은 209mg RXC-4는 377mg이었다. RXC-2에 대한 연속적인 재크로마토그래피를 수행하여 flavan인 화합물 2((+)-leucorobinetinidin, 722mg)를 얻었고 RXC-3으로부터 flavonol인 화합물 10(robinetin, 66mg)을 단리하였다.

에틸아세테이트용성 분획 추출물 20.03g을 EtOH-hexane(2:1)으로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 3개의 분획으로 구분하였으며 각 분획은 RXE로 명명하였고 RXE-1은 2.59g, RXE-2는 14.38g, RXE-3은 444mg이었다. RXE-2에 대하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 수행함으로써 flavanone인 화합물 8(robtin, 152mg)과 flavanoneol인 화합물 9(dihydorobinetin, 2.59g)를 단리하였다.

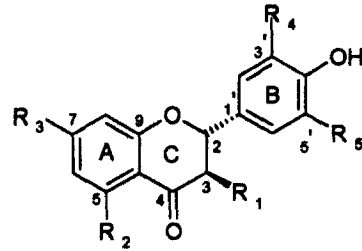
2.7.2 현사시나무(*Populus alba* × *glandulosa*)

현사시나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획 추출물 60.1g을 메탄올-물(5:1)의 용매로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 분획으로 나누었으

며, 각 분획은 HBE로 명명하였고 동결건조하여 얻은 추출물의 양은 HBE-1은 2.47g, HBE-2는 31.00g, HBE-3은 18.39g 그리고 HBE-4는 0.71g이었다.

수용성 분획 추출물 22.80g을 메탄올-물(1:3)로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 3개의 분획으로 분리하였고 HBW로 표시하였으며 HBW-1은 4.93g, HBW-2는 16.69g 그리고 HBW-3은 0.76g을 각각 얻었다.

각 부분에 대하여 계속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 에틸아세테이트용성 분획에서는 flavan인 화합물 1((+)-catechin, 30mg), flavanone인 화합물 3(naringenin, 123mg), 화합물 4(eriodytyol, 20mg)와 화합물 5(sakuranetin, 287mg), flavanonol인 화합물 6(aronadendrin, 207mg)과 화합물 7(taxifolin, 56mg), cinnamic acid인 화합물 12(*p*-coumaric acid, 68mg) 그리고 salicin 파생물인 화합물 13(salireposide, 1.85g)을 단리하였으며 수용성 분획에서는 coumarin 파생물인 화합물 11(aesculin, 35mg)을 단리하였다.



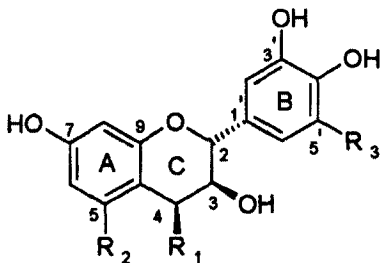
3. R₁=H, R₂=OH, R₃=OH, R₄=H, R₅=H, naringenin
4. R₁=H, R₂=OH, R₃=OH, R₄=OH, R₅=H, eriodyctyol
5. R₁=H, R₂=OH, R₃=OMe, R₄=H, R₅=H, sakuranetin
6. R₁=OH, R₂=OH, R₃=OH, R₄=H, R₅=H, aronadendrin
7. R₁=OH, R₂=OH, R₃=OH, R₄=OH, R₅=H, taxifolin
8. R₁=H, R₂=H, R₃=OH, R₄=OH, R₅=OH, robtin
9. R₁=OH, R₂=H, R₃=OH, R₄=OH, R₅=OH, dihydrorobinetin

2.8 단리화합물

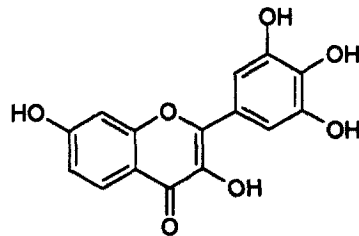
2.8.1 화합물 2((+)-leucorobinetinidin)

R_f : 0.58(solvent A), 0.56(solvent B).

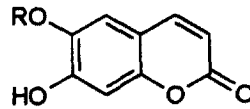
¹H-NMR(δ , CD₃OD): 3.89(1H, dd, *J*=3.4, 9.2Hz, H-3), 4.56(1H, d, *J*=3.3Hz, H-4), 4.82(1H, d, *J*=9.2Hz, H-2), 6.26(1H, d, *J*=2.1Hz, H-8), 6.35(1H, dd, *J*=2.2, 8.3Hz, H-6), 6.49 (2H, s, H-2', 6'), 7.13(1H, d, *J*=8.3Hz, H-5).



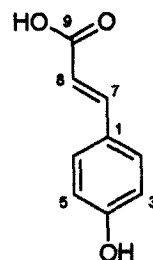
1. R₁=R₃=H, R₂=OH, (+)-catechin
2. R₂=H, R₁=R₃=OH, (+)-leucorobinetinidin



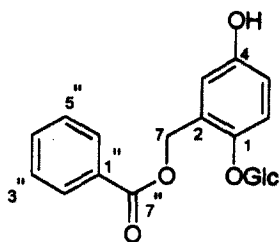
10. robinetin



11. R= β -D-glucopyranose, aesculin



12. *p*-coumaric acid



13. salireposide

$^{13}\text{C-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 67.87(C-4), 72.53(C-3), 78.71(C-2), 103.73(C-8), 108.24(C-2',6'), 110.16(C-6), 116.24(C-10), 131.40(C-5), 132.87(C-1'), 134.60(C-4'), 147.21(C-3',5'), 156.90(C-9), 160.26(C-7).

2.8.2 화합물 3(naringenin)

R_f : 0.77(solvent A), 0(solvent B)

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 2.68(1H, dd, $J=2.9\text{Hz}$, 17.1Hz, $H_{\text{eq}}-3$), 3.09(1H, dd, $J=12.9\text{Hz}$, 17.1Hz, $H_{\text{ax}}-3$), 5.32(1H, dd, $J=2.8\text{Hz}$, 12.9Hz, H-2), 5.88(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-6), 5.89(1H, d, $J=2.2\text{Hz}$, H-8), 6.81(2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-3',5'), 7.30(2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-2',6').

$^{13}\text{C-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 44.06(C-3), 80.51(C-2), 96.18(C-8), 97.07(C-6), 103.37(C-10), 116.34(C-3',5'), 129.07(C-2',6'), 131.10(C-1'), 159.05(C-4'), 164.91(C-9), 165.49(C-5), 168.38(C-7), 197.82(C-4).

2.8.3 화합물 5(sakuranetin)

R_f : 0.91(solvent A), 0.0(solvent B),
FAB-MS: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 287.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 2.71(1H, dd, $J=2.8\text{Hz}$, 17.2Hz, $H_{\text{eq}}-3$), 3.13(1H, dd, $J=17.1\text{Hz}$, $H_{\text{ax}}-3$), 3.79(3H, s, $-\text{OCH}_3$), 5.35(1H, dd, $J=2.7\text{Hz}$, 12.8Hz, H-2), 6.03(1H, d, $J=2.3\text{Hz}$, H-6,8), 6.81(2H, d, $J=8.54\text{Hz}$, H-3',5'), 7.31(2H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-2',6').

$^{13}\text{C-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 44.06(C-3), 56.29($-\text{OCH}_3$), 80.63(C-2), 94.96(C-8), 95.76(C-6), 104.07(C-10), 116.36(C-3',5'), 129.10(C-2',6'), 130.96(C-1'), 159.09(C-4'), 164.73

(C-9), 165.25(C-5), 169.54(C-7), 198.26(C-4).

2.8.4 화합물 8(robтин)

R_f : 0.83(solvent A), 0.42(solvent B).

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 2.60(1H, dd, $J=3.1$, 16.9Hz, $H_{\text{eq}}-3$), 2.88(1H, dd, $J=12.7$, 16.9Hz, $H_{\text{ax}}-3$), 5.16(1H, dd, $J=2.9$, 12.7Hz, H-2), 6.27(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-8), 6.39(2H, s, H-2',6'), 6.40(1H, dd, $J=2.3$, 8.9Hz, H-6), 7.63(1H, d, $J=8.7\text{Hz}$, H-5).

$^{13}\text{C-NMR}(400\text{MHz}, \delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 47.05(C-3), 83.13(C-2), 105.83(C-8), 108.57(C-2',6'), 113.73(C-6), 116.97(C-10), 131.87(C-1'), 133.34(C-5), 136.51(C-4'), 149.07(C-3',5'), 167.50(C-9), 168.80(C-7), 195.60(C-4).

2.8.5 화합물 9(dihydrorobinetin)

R_f : 0.81(solvent A), 0.42(solvent B).

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 4.44(1H, d, $J=11.7\text{Hz}$, H-3), 4.86(1H, d, $J=11.7\text{Hz}$, H-2), 6.32(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-8), 6.53(1H, dd, $J=2.2$, 8.7Hz, H-6), 6.55(1H, s, H-2',6'), 7.71(1H, d, $J=8.7\text{Hz}$, H-5).

$^{13}\text{C-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 74.58(C-3), 85.21(C-2), 103.38(C-8), 108.06(C-2',6'), 112.11(C-6), 113.41(C-10), 129.28(C-5), 130.12(C-1'), 134.87(C-4'), 146.72(C-3',5'), 165.04(C-9), 166.85(C-7), 194.44(C-4).

2.8.6 화합물 10(robinetin)

R_f : 0.44(solvent A), 0.0(solvent B).

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{Acetone-}d_6)$: 6.88(1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H-8), 6.92(1H, dd, $J=2.0$, 8.8Hz, H-6), 7.44(2H, s, H-2',6'), 8.12(1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-5).

$^{13}\text{C-NMR}(\delta, \text{Acetone-}d_6)$: 103.02(C-8), 108.04(C-2',6'), 115.06(C-6), 115.49(C-10), 123.19(C-5), 127.50(C-1'), 135.97(C-3), 138.21(C-4'), 145.35(C-2), 146.37(C-3',5'), 157.87(C-9), 163.31(C-7), 172.97(C-4).

2.8.7 화합물 11(aesculin)

R_f : 0.62(solvent A), 0.30(solvent B),
EI-MS: m/z $[\text{M}]^+$ 340.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CD}_3\text{OD})$: 3.32-3.57(4H, m, H-2',3',4',5'), 3.74(1H, dd, $J=5.8$, 12.0Hz,

H_a-6'), 3.96(1H, dd, *J*=1.7, 11.9Hz, H_b-6'), 4.87(1H, 용매 피크와 중복, H-1'), 6.23(1H, d, *J*=9.4Hz, H-3), 6.82(1H, s, H-8), 7.44(1H, s, H-5), 7.85(1H, d, *J*=9.5Hz, H-4).

¹³C-NMR(δ , CD₃OD): 62.80(C-6'), 71.64(C-4'), 75.80(C-2'), 77.84(C-5'), 78.77(C-3'), 104.49(C-1'), 104.81(C-8), 113.11(C-10), 113.38(C-3), 116.86(C-5), 144.72(C-7), 146.33(C-4), 152.82(C-9), 153.51(C-6), 164.03(C-2).

2.8.8 화합물 12(p-coumaric acid)

R_f : 0.89(solvent A), 0.40(solvent B).

¹H-NMR(δ , CD₃OD): 6.28(1H, d, *J*=15.9Hz, H-8), 6.80(2H, d, *J*=8.6Hz, H-3,5), 7.44(2H, d, *J*=8.6Hz, H-2,6), 7.59(1H, d, *J*=15.8Hz, H-7).

¹³C-NMR(δ , CD₃OD): 115.78(C-8), 116.83(C-3,5), 127.29(C-1), 131.10(C-2,6), 146.58(C-7), 161.15(C-4), 171.17(C-9).

2.8.9 화합물 13(salireposide)

R_f : 0.85(solvent A), 0.66(solvent B),
FAB-MS : m/z [M+Na]⁺ 429, [M+H]⁺ 407.

¹H-NMR(δ , CD₃OD): 3.37(2H, m, H-4',5'), 3.44(2H, m, H-2',3'), 3.68(1H, dd, *J*=5.0, 12.0Hz, H_a-6'), 3.87(1H, d, *J*=11.4Hz, H_b-6'), 4.78(1H, d, *J*=7.5Hz, H-1'), 5.42(1H, d, *J*=13.0Hz, H_a-7), 5.51(1H, d, *J*=13.0Hz, H_b-7), 6.72(1H, dd, *J*=3.0, 8.7Hz, H-5), 6.86(1H, d, *J*=3.0Hz, H-3), 7.12(1H, d, *J*=8.9Hz, H-6), 7.48(2H, t, *J*=7.8과 7.6, 7.7Hz, H-3",5"), 7.61(1H, t, *J*=7.4, 7.4Hz, H-4"), 8.06(2H, dd, *J*=1.4, 7.8Hz, H-2",6").

¹³C-NMR(δ , CD₃OD): 62.62(C-6'), 63.24(C-7), 71.42(C-4'), 75.06(C-2'), 78.09(C-3'), 78.18(C-5'), 104.39(C-1'), 116.25(C-3), 116.62(C-5), 119.32(C-6), 128.76(C-1"), 129.66(C-3",5"), 130.68(C-2",6"), 131.52(C-2), 134.37(C-4"), 149.99(C-4), 154.06(C-1), 168.09(C-7").

3. 결과 및 고찰

아까시나무 목질부 및 현사시나무 수피 추출물로부터 13개의 화합물을 분리하여 구조를 결정하였으며 화합물 1,4,6, 및 7은 Ham & Bae(1992) 및 김 등(1997)에 의하여 이미 보고된 바 있다.

3.1 (+)-leucorobinetinidin(2)

아까시나무 목질부 에틸아세테이트용성 RXE-2에 대한 반복적인 크로마토그래피를 실시하여 flavan-3,4-diol 화합물인 갈색분말의 순수한 (+)-leucorobinetinidin(2) 722mg을 분리하였다. 셀룰로오스 TLC 상에서 R_f값은 0.58(solvent A), 0.56(solvent B)이었고 UV 램프에서는 진한 갈색으로 그리고 vanillin-HCl-EtOH 발색제에 진한 적색으로 반응하였다.

¹H-NMR spectrum에서 δ 6.49의 단일 peak는 C-3',4'와 5'에 각각 수산기가 결합되어 있는 pyrogallol의 형태를 나타내며 ¹³C-NMR 스펙트럼에서는 C-2'과 C-6', C-3'과 C-5'는 각각 서로 대칭으로서 δ 108.24와 147.21에서 나타나고 있으며 C-4'은 인접한 탄소들의 수산기 영향으로 catechol 형태의 C-4'보다 약 10ppm정도 upfield로 이동되어 나타나고 있다.

C환에서 δ 3.89의 double doublet(*J*=3.4, 9.2Hz) 피크는 H-3을, H-2는 doublet(*J*=9.2Hz)으로 나타내며, H-4는 δ 4.56에서 doublet(*J*=3.3Hz)으로 나타나며 인접한 H-2와 H-3, H-3과 H-4와의 입체화학적 구조가 trans-cis의 구조를 나타내고 있음을 알 수 있다.

¹³C-NMR에서 δ 67.87, 72.53과 78.71의 피크는 각각 C-4, C-3와 C-2를 나타내며 C-4에 수산기가 β 형태로 결합되어 있음을 보여 주고 있으며 Viviers 등(1983)이 보고한 leucorobinetinidin의 C-3,4 trans 구조와는 입체화학적으로 다른 이성질체 화합물이다.

A환은 resorcinol의 형태로서 ¹H-NMR에서는 H-6은 δ 6.35에서 double doublet으로서 ortho와 meta coupling에 의해 *J*값이 2.2Hz와 8.3Hz로 나타나고, H-8은 δ 6.26에서 *J*값이 2.1Hz인 doublet으로 나타나며 H-5는 δ 7.13에서 doublet(*J*=8.3Hz)으로 나타났다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서는 δ 103.73, 110.16, 131.40에서 각각 C-8, C-6, C-5의 피크를 보이고 있다.

3.2 Naringenin(3)과 Sakuranetin(5)

Naringenin(3)은 미색의 결정성 화합물로, sakuranetin(5)은 희백색의 분말로서 현사시나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획에서 단리하였으며 Cellulose 2D-TLC 상에서의 R_f 는 각각 0.77(solvent A)와 0(solvent B) 그리고 0.91(solvent A)과 0(solvent B)으로 나타났습니다.

이 두 화합물은 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼 상에서의 B환과 C환의 피크유형은 Harbone & Mabry(1982), Harbone(1994)과 Agrawal(1989)이 정리한 naringenin과 거의 유사한 형태를 보이고 있으며 methoxyl기가 결합된 A환에서 약간의 차이를 보이고 있다.

Naringenin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 5.32의 피크는 H-2의 것으로서 H-3의 두 수소에 의한 영향으로 double doublet으로 나타났으며 J 값은 *cis*의 수소가 2.9Hz, *trans*의 수소는 12.9Hz의 J 값을 나타내며 H-3의 두 수소들은 각각 δ 2.68(equatorial)과 3.09(axial)에서 double doublet으로 나타나고 있으며 J 값은 vicinal 수소에 의해서 각각 2.9Hz와 12.9Hz의 값을 나타내며 geminal 수소에 의해서는 17.1Hz의 값을 나타내고 있다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-2와 C-3이 δ 80.50과 44.06에서 나타난 것은 flavanone의 전형적인 형태이며 δ 197.26에서 나타난 피크는 C-4에 carbonyl기가 결합되어 있음을 알 수 있다.

또한 δ 6.81과 δ 7.30의 doublet 피크들은 J 값이 8.5Hz로서 B환의 구조를 나타내며, H-2'과 H-6'이, H-3'과 H-5'이 서로 대칭으로 구성되어 있으며, H-2', 6'과 H-3', 5'이 서로 *ortho* coupling하고 있는 phenol형의 B환 구조임을 알 수 있다.

Sakuranetin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 methoxyl기의 $-\text{OCH}_3$ 의 수소들에 대한 피크는 δ 3.79에서 나타나고 있고 적분값은 정확히 3개의 수소를 보이며 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 $-\text{OCH}_3$ 의 탄소는 δ 56.29에서 강한 피크를 보이고 있다.

Naringenin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 H-6과 H-8은 각각 δ 5.88과 5.89에서 거의 겹쳐질 정도로 근접해서 *meta* coupling되어 doublet으로 나타났으나 이 화합물에서는 약 0.15ppm 정도 저자장 쪽인 δ 6.03에서 겹쳐서 나타나고 있다. 이것은 A

환에서 methoxyl기가 H-6과 H-8에 대하여 거의 동일한 영향을 주고 있기 때문이다.

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-7의 피크는 δ 169.54로서 naringenin보다 약 1.2ppm 정도 down-field로 이동되어 나타나고 있으며 C-4는 δ 198.26으로 naringenin과 거의 동일하며 methoxyl기가 C-5의 $-\text{OH}$ 에 치환되지 않았음을 알 수 있다. Flavanone 화합물은 C-5의 수산기에 methoxyl 또는 glucose 등이 결합될 경우 C-5와 C-4 사이의 수소결합이 끊어지게 되어 C-4의 chemical shift는 δ 193~192까지 고자장쪽으로 이동하게 된다 (Agrawal, 1989).

FAB-MS 분석에서는 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 의 m/z 가 287로서 sakuranetin의 분자량인 286과 정확히 일치하였다.

3.3 Robtin(8)과 dihydrorobinetin(9)

아까시나무 목질부 에틸아세테이트용성 RXE-2로부터 노란색의 robtin(8) 152mg과 (+)-dihydrorobinetin(9) 2.59g을 얻었다. 이 화합물들의 R_f 값은 각각 0.83(solvent A), 0.42(solvent B)과 0.81(solvent A), 0.42(solvent B)였고 UV 램프에서는 진한 갈색으로 관찰되었으며 vanillin-HCl-EtOH 발색제를 TLC 판에 분무하여 열기전 조하였을 때 노란색으로 반응하였다.

Robtin과 dihydrorobinetin의 구조는 resorcinol A환과 pyrogallol B환으로 구성되며 C환에서는 C-3의 위치에 수산기 유무(有無)의 차이가 있다. 그러므로 NMR 스펙트럼 상에서 A환과 B환의 값들은 거의 동일한 형태를 나타내고 있고 (+)-leucorobinetinidin의 NMR 값들과도 매우 유사한 피크 유형을 보여 준다.

Robtin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 H-2는 δ 5.16에서 H-3의 두 수소에 의하여 double doublet($J=2.9, 12.7\text{Hz}$)의 형태로 나타났으며, δ 2.60에서는 H-3의 equatorial 수소가 double doublet($J=3.1, 16.9\text{Hz}$)으로 그리고 δ 2.88에서는 H-3의 axial 수소가 double doublet($J=12.7, 16.9\text{Hz}$)으로 나타났다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 flavanone의 특징적인 피크들인 C-3은 δ 47.05에서 나타났으며 C-2는 δ 83.13에서 나타났다.

Dihydrorobinetin의 $^1\text{H-NMR}$ 에서 δ 4.44에서

나타난 doublet 피크는 H-3으로 H-2와의 coupling에 의하여 J 값이 11.7Hz로 서로 trans 구조를 하고 있는 전형적인 flavanone의 구조임을 알 수 있으며 ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 C-2와 C-3의 피크는 각각 δ 85.21, 74.58에서 flavanone의 특징적인 피크를 나타내며 Bae(1992)가 보고한 ^{13}C -NMR data와 동일하게 나타났다.

3.4 Robinetin(10)

아까시나무 목질부 클로로포름용성으로부터 노란색의 robinetin(10) 침전물 66mg을 분리하였으며 셀룰로오스 TLC 상에서 R_f 값은 0.44(solvent A), 0.00(solvent B)이었고 UV 램프에서 노란색으로 관찰되었다. Vanillin-HCl-EtOH 발색제에 매우 진한 노란색으로 반응하였다. 화합물의 구조는 A환이 resorcinol, B환은 pyrogallol 형태를 갖는 flavonol이다.

A환과 B환에 대한 ^1H -NMR과 ^{13}C -NMR 스펙트럼의 형태는 (+)-leucorobinetinidin과 robtin, dihydrorobinetin과 매우 유사한 형태를 나타낸다. 또한 C환에서는 C-2와 C-3가 이중결합으로 되어 있고 C-3에 수산기가 결합되어 있어 ^1H -NMR 상에서 수소들의 피크들의 존재는 찾을 수 없다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 δ 145.35와 135.97에서 C-2와 C-3가 나타나고 있으며 C-4의 피크는 δ 172.97에서 나타나며 flavonol 화합물의 전형적인 C환 피크 형태를 보여 준다.

Malan과 Roux(1975)가 보고한 robinetin의 NMR 스펙트럼 형태와 동일하게 나타났다.

3.5 Aesculin(11)

Aesculin(11)은 현사시나무 수피 수용성 분획에서 결정으로 단리되었다. 셀룰로오스 TLC 상에서 aesculin은 R_f 값이 0.62(solvent A), 0.30(solvent B)이었으며 UV 램프하에서는 갈색으로 보였고 발색제에는 반응하지 않았다.

이 화합물은 쿠마린의 기본골격을 가지고 있고 aesculin은 C-6의 수산기에 glucose가 결합된 배당체 화합물이다.

Aesculin의 ^1H -NMR 스펙트럼에서 δ 3.3~4.0의 복잡한 피크들은 β -D-glucopyranose의 H-2'~6'을 나타내며 δ 4.87의 doublet 피크는 전형적

인 β -D-glucopyranose의 H-1'을 나타낸다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서 δ 62.80(C-6'), 71.64(C-4'), 75.80(C-2'), 77.84(C-5'), 78.77(C-3')과 104.49(C-1')의 피크는 전형적인 β -D-glucopyranose의 형태를 보여 주고 있다. 또한 ^1H -NMR 스펙트럼에서 H-8과 H-5는 δ 6.79와 7.42에서 singlet으로 나타났고 ^{13}C -NMR 스펙트럼에서 C-8과 C-5는 각각 δ 104.81과 116.86의 흡수피크를 나타냈다. C-7은 δ 144.72에서 나타났고 C-6은 δ 153.51에서 나타나고 있으며 이것은 C-6에 glucose가 결합되어 있음을 나타내며 Matsuda & Kikuchi(1995)가 보고하였던 aesculin의 값과 동일하게 나타났다. EI-MS 분석에서 $[\text{M}]^+$ 의 m/z 는 340으로 나타났으며 aesculin의 분자량인 340과 동일하게 나타났다.

Aesculin은 몰푸레나무 속의 수종들에 많이 분포되어 있는 것으로 보고되었으며 약리효과로는 항히스타민 효과, 관절염의 억제효과, 소변의 배출을 돕는 이뇨작용 및 자외선을 흡수하여 햇볕에 의한 피부의 손상을 보호하는 작용 등의 효과가 있는 것으로 김 등(1998)에 나타나 있으나 사시나무속의 수종에서 추출된 것은 국내에서 아직 보고되지 않았다.

3.6 *p*-Coumaric acid(12)

p-Coumaric acid(12)는 현사시나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획에서 미색의 결정성 화합물로 단리할 수 있었으며 셀룰로오스 2D-TLC 전개 후 UV 램프하에서 청형광색으로 보였으며 R_f 값은 0.89(solvent A)와 0.40(solvent B)으로 나타났다.

^1H -NMR 스펙트럼에서 δ 6.28과 7.59의 doublet은 carbonyl과 결합된 이중결합의 특징적인 signal로서 J 값은 각각 15.9와 15.8Hz로 나타났다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 이중결합을 이루는 C-7과 C-8은 각각 δ 146.58과 115.81에서 전형적인 cinnamic acid의 피크를 보여 주고 있다. 또한 δ 171.17의 signal은 carboxyl 기를 지니는 C-9의 피크를 나타낸다.

^1H -NMR 스펙트럼에서 δ 6.80과 7.44에서의 doublet는 J 값이 8.6Hz로서 ortho coupling을 이루고 있고 적분값은 2개의 수소를 나타내며

phenol환에서 para 위치의 OH를 중심으로 대칭을 나타내고 있다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 116.83의 피크는 C-3과 C-5를 나타내며 δ 131.10의 signal은 C-2와 C-6에 해당되는 피크이며 수산기가 결합되어 있는 C-4는 δ 161.15에서 나타나고 있다.

Ternai & Markham(1976)이 보고한 *p*-coumaric acid의 $^{13}\text{C-NMR}$ 값들과 거의 동일한 값을 나타내었다.

3.7 Salireposide(13)

Salireposide(13)는 현사시나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획에서 흰색의 침상결정 화합물로 분리할 수 있었으며 셀룰로오스 2D-TLC 전개 후 UV 램프하에서는 갈색으로 나타났으며 R_f 값은 0.85(solvent A)와 0.66 (solvent B)으로 나타났다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 3.37~3.87의 signal은 β -D-glucopyranose의 H-2'~6'의 전형적인 피크유형을 나타내고 있고 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 75.0, 78.13, 71.49, 78.61과 62.68의 피크들은 C-2'~6'을 나타내며 hemiacetal 결합을 하고 있는 β -D-glucopyranose의 C-1'은 δ 104.39에서 나타났다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 6.72의 double doublet 피크는 salirepin의 H-5로서 J 값이 각각 3.0Hz, 8.7Hz로 *meta*와 *ortho* coupling이 함께 일어났다. H-3은 δ 6.86에서 doublet(J =3.0Hz)으로 나타나며 H-6은 δ 7.12에서 *ortho* coupling된 doublet(J =8.9Hz)으로 나타났다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-3, C-5와 C-6은 각각 δ 116.25, 116.62와, δ 119.32에서 나타나고 있다. β -D-glucopyranose와 수산기가 결합되어 있는 C-1과 C-4는 각각 δ 154.06과 149.99에서 나타났고 methylol기가 결합된 C-2는 δ 131.52에서 나타나고 있다.

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 63.24의 피크는 C-7로서 methylol의 수산기가 benzoic acid의 -OH와 결합되어 5ppm 이상 downfield로 이동되어 있음을 알 수 있다. 또한 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 H-7의 signal은 δ 5.42와 5.51에서 두 개의 doublet(J =13.0Hz)으로 나타나고 있다.

Salirepin과 결합되어 있는 benzoic acid 부분의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서는 δ 7.48과 7.61에서 각각 H-3"과 5" 그리고 H-4"의 피크를 보여 주고 있으며 이보다 down된 δ 8.06에서 H-2"과 6"의 signal을 관찰할 수 있다. 또한 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 benzoic acid의 C=O는 ester의 특징적인 흡수대인 δ 168.09에서 나타났다(함, 2000).

FAB-MS 분석에서 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 의 m/z 가 429이며 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 의 m/z 는 407로서 salireposide의 분자량 406과 일치하였다.

4. 결론

내후성이 높은 수종으로 알려진 아까시나무, 그리고 현사시나무를 실험대상으로 하여 아까시나무는 목질부를, 현사시나무는 수피를 아세톤-물(7:3) 용액으로 추출한 후 추출액을 hexan용성, 클로로포름 용성, 에틸아세테이트용성 및 수용성으로 분획하여 동결건조하였다. 각 분획 혼합물을 분리하기 위하여 Sephadex LH-20 칼럼크로마토그래피를 수행하였고 단리여부를 확인하기 위하여 셀룰로오스 박층크로마토그래피를 수행하였으며 전개용매로는 *t*-BuOH-AcOH-H₂O(3:1:1, v/v, TBA(solvent A))와 6% AcOH(solvent B)를 사용하였으며 UV 램프 및 발색제로 반응하여 나타나는 색을 관찰하였다.

아까시나무의 목질부 클로로포름용성 분획으로부터 robinetin(66mg)과 (+)-leucorobinetinidin(722mg)을 얻었고 에틸아세테이트용성으로부터 다량의 dihydrorobinetin(2.59g)과 robtin(152mg)을 단리하였다. 단리된 화합물들의 특징은 A환의 형태가 주로 resorcinol의 구조를 가지며 B환은 pyrogallol의 형태를 갖는 flavonoid 화합물이었다.

현사시나무 수피 에틸아세테이트용성 분획에서는 (+)-catechin(30mg), naringenin(123mg), eriodictyol(20mg), sakuranetin(287mg), aromadendrin(207mg), taxifolin(56mg), *p*-coumaric acid(68mg) 및 salireposide(1.85g)를 단리하였고 수용성 분획에서는 aesculin(35mg)이 단리되었으며 이것은 사시나무속의 수종에서는 아직 국내에서 보고되지 않은 화합물이다.

참 고 문 헌

1. Agrawal, P. K. 1989. Carbon ^{13}C -NMR of flavonoids. Elsevier Science Publishing Company INC. pp. 95~153.
2. Bae, Y. S. 1992. Structural Identification of *Robinia Pseudoacacia* L. Flavonoids for Wood Adhesive Formulation. Mokchaekonghak. 20(1) : 79~85.
3. Malan, E. and D. G. Roux. 1975. Flavonoids and Tannins of Acacia Species. phytochemistry. 14 : 1835~1841.
4. Ham, Y. H. and Y. S. Bae. 1995. Flavonoid extractives of *Populus albaglandulosa*. Mokchaekonghak. 23(2) : 94~99.
5. Harborne, J. B. and T. J. Mabry. 1982. The Flavonoids: advances in research. Chapman and Hall Ltd. pp. 24~28, 100.
6. Harborne, J. B. 1994. The Flavonoids. Champman and Hall LTD. pp. 441~497.
7. Matsuda, N. and M. Kikuchi. 1995. A Coumarin glycoside from *Lonicera gracilipes* var. *glandulosa*. Phytochemistry. 38(3) : 803~804.
8. Roux, D. G. and E. Paulus. 1962. Condensed tannins: Interrelationships of flavonoid components from the heartwood of *Robinia Pseudoacacia*. Biochem. J. 82 : 324~330.
9. Schultz, T. P., W.B. Harms, T. H. Fisher., K. D. McMurtrey., J. Minn and D. D. Nicholas. 1995. Durability of Angiosperm Heartwood: The Importance of Extractives. Holzforschung. 49(1) : 20~34.
10. Ternai, B. and K. R. Markham. 1976. Carbon- ^{13}C NMR studies of flavonoids I : flavones and flavonols. Tetrahedron. 32 : 565~569.
11. Vivers, P. M., J. J. Botha., D. Ferreira and D. G. Roux. 1983. Synthesis of Condensed Tannins. Part 7. Angular [4,6:4,8]~Prorobinetidin Triflavanoids from Black Wattle('*Mimosa*') Bark Extract. J. CHEM.SOC. pp. 17~22.
12. 김진규, 박완근, 배영수. 1997. 일본잎갈나무 잎의 후라보노이드 배당체. 목재공학. 25(2) : 81~87.
13. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 1998. 중약대사전. 도서출판 정담. 8 : 5194~5199.
14. 이상용, 김완규. 1990. 소나무 리지나뿌리썩음병에 관한 연구. 한국임학회지. 79(3) : 322~329.
15. 함연호. 2000. 사시나무속과 버드나무속 주요수종 수피의 추출성분에 관한 연구. 강원대학교 박사학위논문.