

약용 활엽수종인 물푸레나무와 느릅나무 수피의 추출성분*1

배 영 수*2 · 김 진 규*2

Extractives of the Bark of Ash and Elm as Medicinal Hardwood Tree Species*1

Young-Soo Bae*2 · Jin-Kyu Kim*2

요 약

물푸레나무와 느릅나무의 수피를 아세톤-물의 혼합용액으로 추출하고 hexane, chloroform, ethylacetate 및 물 분획으로 분류하여 동결건조하고 분말상으로 조제하였다. 각 분획의 분말상 추출물을 메탄올-물 및 에탄올-헥산의 혼합액을 사용하여 Sephadex LH-20 칼럼으로 크로마토그래피를 수행하였다. 물푸레나무의 수피는 소량의 ligstroside와 oleuropein 및 aesculin이나 aesculitin과 같은 다량의 쿠마린 유도체를 포함하고 있었으며 느릅나무 수피 추출물의 대부분은 (+)-catechin과 (+)-catechin-7-O-xylopyranose (+)-catechin-7-O-apiofuranose와 같은 (+)-catechin의 배당체 화합물 및 (+)-catechin의 이량체인 소량의 procyanidin B-3 화합물이었으며 단리된 페놀성 화합물의 구조를 구명하기 위하여 NMR과 FAB-MS 분석을 수행하였다.

ABSTRACT

The bark of ash(*Fraxinus rhynchophylla*) and elm(*Ulmus davidiana* var. *japonica*) trees were collected, extracted with acetone-H₂O(7:3, v/v), fractionated with hexane, chloroform and ethylacetate, and freeze dried to give some dark 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 eluents. The ash bark contained a large amount of coumarin derivatives such as aesculetin and aesculin in addition to trace amount of ligstroside and oleuropein. Most of the elm bark extractive were (+)-catechin and its glycosides such as (+)-catechin-7-O-xylopyranose and (+)-catechin-7-O-apiofuranose in addition to a small amount of procyanidin B-3, a dimeric (+)-catechin. NMR and FAB-MS spectrometric analyses were performed to characterize the structures of isolated phenolic compounds.

Keywords : Bark, ash, elm, Sephadex LH-20, coumarin derivatives, (+)-catechin, glycosides, procyanidin B-3

*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

1. 서론

최근 전통의학 및 한방에서 약재로 예로부터 사용되어 온 수목 및 약용식물의 추출성분을 이용한 기능성 물질, 항암제 또는 천연방충제 개발 등에 대한 연구에 많은 관심이 집중되고 있으며 그중 활엽수의 추출성분은 침엽수와 비교할 때 그 종류가 다양하고 복잡하며 많은 약리성분을 포함하고 있으나 과학적인 구멍이 미흡한 실정이다.

물푸레나무와 느릅나무는 예로부터 한방에서 중요한 약재로 이용되어 왔으며 특히 물푸레나무의 수피는 진피라고도 불리며 눈병과 이질 등에 특효약으로 사용되었으며 소염, 수렴, 해열 등의 효능이 있는 것으로 동의학연구소(1994)와 김 등(1998)에서 밝히고 있다. 또한 동의보감에서는 느릅나무의 수피를 유피 또는 유패피라고도 하며 대·소변의 불통, 불면증, 부종, 거담, 위통 및 종창에 탁월한 효과를 보인다고 하였다.

본 연구는 국내에서 자생하고 있는 활엽수종들 중 약리효과가 우수한 것으로 알려져 있는 물푸레나무 및 느릅나무의 추출성분을 대상으로 중요한 화학조성분을 분리하고 그들의 구조를 구명함으로써 금후 이 성분들을 기능적으로 이용할 수 있는 기초자료를 작성하고자 시도되었다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시재료

강원도에서 자생하는 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)와 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. *japonica*) 한 그루씩을 벌채하여 공시재료로 사용하였고 물푸레나무는 1998년 4월 강원도 춘천시 동산면 강원대학교 봉명연습림에서 수령 30년생 수목을 벌채하였고 느릅나무는 1998년 8월 강원대학교 봉명연습림에서 수령 27년생 수목을 벌채하여 공시시료로 사용하였다.

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

2.2 추출물의 조제

기건된 물푸레나무 수피 1kg과 느릅나무 수피 2kg을 각각 10 l의 유리용기에 넣고 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용매로 약 3일간 추출하였고 이 과정을 3회 반복하였으며 추출액은 진공회전 농축기로 농축하였다.

농축된 추출물은 분획갈때기 상에서 먼저 핵산용성 화합물을 분리하였으며 다음에 클로로포름용성, 에틸아세테이트용성 및 수용성 부분으로 순차적으로 분리하였다. 각 추출물 분획은 동결건조기를 이용하여 분말로 조제하였다.

각 수종으로부터 추출되어 동결건조된 추출물의 양은 Table 1과 같다.

2.3 칼럼크로마토그래피

각 시료로부터 조제된 추출물의 클로로포름 및 에틸아세테이트용성과 수용성 분획을 칼럼크로마토그래피를 실시하여 순수한 단일 화합물을 분리하였다. 사용된 칼럼은 내경 4.5, 3, 1.5 및 1cm, 길이 60과 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:핵산(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 분리하고 무색에 가까워지면 아세톤:물(1:1, v/v)을 사용하여 칼럼을 세척하였다.

2.4 박층크로마토그래피

시험관에 일정량으로 모아진 화합물의 순도를 확

Table 1. The amount of bark extractives 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>Fraxinus rhynchophylla</i>	1kg	-	8.0	50.0	150.0	10.0	218.0
<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i>	2kg	-	6.2	14.9	89.5	-	110.6

인하기 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 수행하여 순수한 결정성의 화합물을 얻었다.

2.6 단리화합물의 구조 분석

각 시료 추출물로부터 단리된 화합물의 구조를 결정하기 위하여 핵자기공명 분광분석 스펙트럼을 분석하였고 정확한 분자량을 확인하기 위하여 질량 분석을 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 스펙트럼을 분석하여 단리화합물의 구조를 결정하였다. 단리된 화합물의 정확한 분자량을 측정하기 위하여 강원대학교 공동실험실습관의 Micro-

mass사 Autospec M363 질량분석기기를 사용하였고 EI-MS와 FAB-MS 분석을 실시하였다.

2.7 수증별 화합물의 단리

2.7.1 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)

물푸레나무 수피부를 아세톤-물(7:3)의 용매로 추출하여 농축하는 과정에서 침전물이 형성되어 재결정법으로 정제한 후 화합물 4(aesculetin, 10g)를 분리하였다.

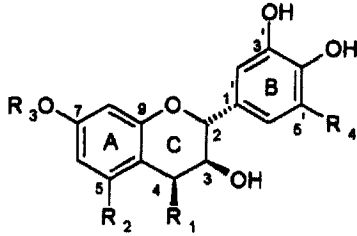
에틸아세테이트용성 분획 추출물 16.4g을 95% 에탄올 용액으로 칼럼크로마토그래피를 실시하였으며 각 분획은 FBE로 명명하였고 FBE-1은 1.68g, FBE-2는 3.49g, FBE-3은 6.25g, FBE-4는 1.8g 그리고 FBE-5는 1.77g이었다. FBE-3에 대하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 수행하여 coumarin 파생물인 결정성의 화합물 4(aesculetin, 3.3g)와 화합물 5(aesculin, 41mg)를 단리하였다. 또한 FBE-1에 대하여 계속적으로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 에스테르 화합물인 화합물 6(ligstroside, 46mg)과 화합물 7(oleuropein, 980mg)을 단리할 수 있었다.

수용성 분획 추출물 30g을 MeOH-H₂O(1:1)의 용매로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 4개의 부분으로 분리한 후 FBW로 명명하였으며 FBW-1은 810mg, FBW-2는 24g, FBW-3은 2.76g 그리고 FBW-4는 1.6g을 얻었다. FBW-3에 대하여 재크로마토그래피를 수행하여 화합물 5(aesculin, 70mg)를 단리하였다.

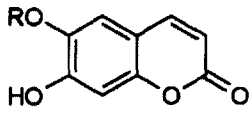
2.7.2 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. *japonica*)

느릅나무 수피 에틸아세테이트용성 분획 추출물 10g을 유리칼럼에 주입하고 메탄올-물(2:1, v/v)로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 3개의 분획으로 분리하였으며 각 분획은 UBE로 명명하였고 UBE-1은 1.05g, UBE-2는 7.20g 및 UBE-3은 1.32g이었다. UBE-2 분획을 계속적으로 재크로마토그래피를 수행하여 flavan-3-ol 및 그 파생물인 화합물 1((+)-catechin, 418mg), 화합물 2((+)-catechin-7-O-β-D-apiofuranoside, 3.22g)과 화합물 3((+)-catechin-7-O-β-D-xylo-pyranoside, 109mg) 그리고 (+)-catechin 이량체인 화합물 8((+)-catechin(4α→8)-(+)-catechin, 59mg)을 단리하였다.

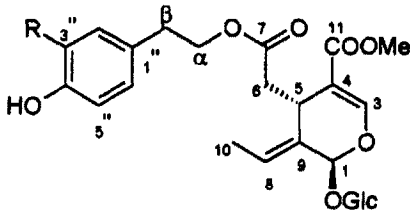
2.8 단리화합물



1. $R_1=R_3=R_4=H$, $R_2=OH$, (+)-catechin
2. $R_1=R_4=H$, $R_2=OH$, $R_3=apiose$, (+)-catechin-7-O-apiofuranoside
3. $R_1=R_4=H$, $R_2=OH$, $R_3=xylose$, (+)-catechin-7-O-xylopyranoside



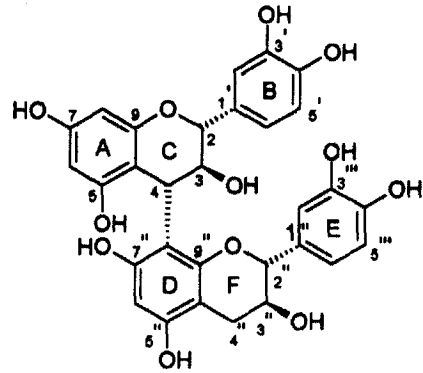
4. $R=H$, aesculetin
5. $R=glucose$, aesculin



6. $R=H$, ligstroside
7. $R=OH$, oleuropein

2.8.1 화합물 2((+)-catechin-7-O-β-D-apiofuranoside)
 R_f : 0.47(solvent A), 0.50(solvent B), FAB-MS : $[M+H]^+$ m/z 423.

1H -NMR(δ , CD_3OD): 2.54(1H, dd, $J=8.0$, 16.3Hz, H_{ax-4}), 2.85(1H, dd, $J=5.4$, $J=16.3$ Hz, H_{eq-4}), 3.60(1H, d, $J=12.1$ Hz, H_a-5''),



8. (+)-catechin(4 α →8)-(+)-catechin

3.63(1H, d, $J=12.1$ Hz, H_b-5''), 3.86(1H, d, $J=9.8$ Hz, H_a-4''), 3.99(1H, dd, $J=9.5$, 16.0Hz, H-3), 4.08(1H, d, $J=9.7$ Hz, H_b-4''), 4.13(1H, d, $J=2.8$ Hz, H-2''), 4.60(1H, d, $J=7.3$ Hz, H-2), 5.47(1H, d, $J=2.8$ Hz, H-1''), 6.07(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6), 6.13(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.71(1H, dd, $J=1.2$, 8.1Hz, H-6'), 6.76(1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 6.83(1H, s, H-2').

^{13}C -NMR(δ , CD_3OD): 28.77(C-4), 65.31(C-5''), 68.98(C-3), 75.79(C-4''), 78.64(C-2''), 80.66(C-3'), 83.23(C-2), 97.23(C-8), 97.64(C-6), 103.61(C-10), 109.04(C-1''), 115.56(C-2'), 116.49(C-5'), 120.35(C-6'), 132.47(C-1'), 146.59(C-3'), 146.61(C-4'), 157.23(C-5), 157.92(C-7), 158.52(C-9).

2.8.2 화합물 3((+)-catechin-7-O-β-D-xylopyranoside)

R_f : 0.31(solvent A), 0.55(solvent B), FAB-MS : $[M+H]^+$ m/z 423.

1H -NMR(δ , CD_3OD): 2.53(1H, dd, $J=8.0$, 16.3, H_{ax-4}), 2.85(1H, $J=5.3$, 16.3, H_{eq-4}), 3.31(1H, m, $H_{ax-5''}$), 3.39(2H, m, H-2'', 3''), 3.55(1H, m, H-4''), 3.89(1H, m, $H_{eq-5''}$), 4.00(1H, m, H-3), 4.59(1H, d, $J=7.4$ Hz, H-2), 4.76(1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1''), 6.11(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.16(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 6.72(1H, dd, $J=1.8$, 8.1Hz, H-6'), 6.77(1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 6.84(1H, d, $J=1.7$ Hz, H-2').

^{13}C -NMR(δ , CD_3OD): 28.71(C-4), 67.10(C-5''),

68.80(C-3), 71.30(C-4''), 74.92(C-2''), 77.98(C-3''), 83.13(C-2), 97.19(C-8), 97.69(C-6), 103.03(C-1''), 103.96(C-10), 115.48 (C-2'), 116.41(C-5'), 120.29(C-6'), 132.28(C-1'), 146.46(C-3'), 146.50(C-4'), 157.06 (C-5), 157.76(C-7), 158.69(C-9).

2.8.3 화합물 4(aesculetin)

R_f : 0.67(solvent A), 0.22(solvent B).

¹H-NMR(δ, Acetone-d₆): 6.2(1H, d, J=9.5Hz, H-3), 6.8(1H, s, H-8), 7.1 (1H, s, H-5), 7.9(1H, d, J=9.5Hz, H-4).

¹³C-NMR(δ, Acetone-d₆): 103.4(C-8), 112.2(C-10), 112.5(C-5), 112.9(C-3), 143.8(C-7), 145.5(C-4), 149.9(C-6), 151.2(C-9), 162.8(C-2).

2.8.4 화합물 5(aesculin)

R_f : 0.62(solvent A), 0.30(solvent B), EI-MS : m/z [M]⁺ 340.

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD): 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, overlap with solvent peak, 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(400MHz, 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).

2.8.5 화합물 8((+)-catechin(4α→8)-(+)-catechin, Pro-cyanidin B-3)

R_f : 0.38(solvent A), 0.50(solvent B).

(Notes: M= major rotamer, m= minor rotamer, *= changeable)

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD): 2.49(1H, dd, J=8.0, 16.2Hz, H_{ax}-4''), 2.76(1H, dd, J=5.7, J=16.4Hz, H_{eq}-4''), 3.79, 4.08(1H, m, H-3''), 4.25(1H, d, J=9.5Hz, H-4), 4.35, 4.52(1H, t, J=9.4 and 7.8Hz, 8.6Hz, H-3), 4.41(H-2, d, J=7.8Hz, H-2''), 4.74(1H, d, J=7.3Hz, H-2), 5.78(3/4H, d, J=2.3Hz, H-6(M)), 5.81(1/4H, d, J=2.3Hz, H-6(m)), 5.84(1/4H, d, J=2.3Hz, H-8(m)), 5.89(1/4H, d, J=2.4Hz, H-8(M)), 5.94(1/4H, s, H-6''(m)),

6.07(3/4H, s, H-6''(M)), 6.24-6.99(6H, br-m, H-2', 2'', 5', 5'', 6', 6'').

¹³C-NMR(δ, CD₃OD): 28.74(C-4''(m)), 29.03(C-4''(M)), 38.85(C-4), 68.83(C-3''(m)), 69.18(C-3''(M)), 73.97(C-3), 82.71(C-2''(M)), 83.19(C-2''(m)), 84.21(C-2(M)), 84.36(C-2(m)), 96.33(C-8(M)), 96.51(C-8(m)), 97.14(C-6(M)), 97.60(C-6''(M)), 97.77(C-6(m)), 97.83(C-6''(m)), 100.76(C-10''(m)), 102.51(C-10''(M)), 107.47(C-10), 108.46(C-8''(M)), 108.62(C-8''(m)), 115.47(C-2'(m)), 115.78(C-2'(M)), 116.21(C-5'(m)), 116.34(C-5'(M)), 116.43(C-5''(m)), 116.48(C-5''(M)), 116.69(C-2'''), 120.12(C-6''(M)), 120.44(C-6''(m)), 120.90(C-6'(M)), 121.32(C-6'(m)), 132.12(C-1''(M)), 132.43(C-1''(m)), 132.67(C-1(m)), 132.89(C-1(M)), 145.74*(C-4''(M)), 145.88*(C-4''(m)), 146.06*(C-3''(m), 4'(m)), 146.34*(C-3''(M), C-4'(M)), 146.39*(C-3'(M)), 146.64*(C-3'(m)), 155.14(C-5''(M)), 155.25(C-5''(m)), 155.91(C-5'(M)), 156.03(C-5'(m)), 156.12*(C-7'''), 157.38*(C-7'(M)), 157.39*(C-9''(M)), 157.56*(C-7'(m)), 157.71*(C-9''(m)), 158.90(C-9').

3. 결과 및 고찰

느릅나무 수피와 물푸레나무 수피 추출물로부터 8개의 화합물을 분리하여 구조를 결정하였으며 화합물 1, 6 및 7은 Ham & Bae(1995), 이 등(1997)에 의하여 보고된 바 있다.

3.1 (+)-catechin-7-O-apiofuranoside(2)와 (+)-catechin-7-O-xylopyranoside(3)

(+)-Catechin-7-O-apiofuranoside(2)와 (+)-catechin-7-O-xylopyranoside(3)는 느릅나무 수피 에틸아세테이트용성 분획에서 분리하였으며 (+)-catechin-7-O-apiofuranoside(2)는 비교적 많은 양인 3.22g, (+)-catechin-7-O-xylopyranoside는 107mg을 분리하였다.

화합물 2는 TLC 상에서 vanillin-HCl-EtOH 발색제에 진한 적색으로 반응하였으며 R_f값은

0.47(solvent A), 0.50(solvent B)이었다. 화합물 3은 발색제에 연분홍색으로 반응하였으며 R_f 값은 0.31(solvent A), 0.55(solvent B)였다.

이 두 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 나타난 aglycone의 형태는 Agrawal(1989)과 함(2000)이 보고한 (+)-catechin과 매우 유사한 형태를 나타냈으며 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 H-6과 H-8은 (+)-catechin보다 각각 약 0.2ppm 정도씩 downfield로 이동되어 나타나고 있으며 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 C-6과 C-8은 각각 1ppm과 1.4ppm씩 downfield로 이동되어 나타났다. 또한 C-7은 약 0.6ppm 정도 downfield로 이동되어 나타났다. 이것은 C-7에 탄수화물이 결합되어 있음을 나타낸다.

화합물 2의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 3.60과 3.63의 doublet 피크들은 apiofuranose의 C-5"의 두 수소를 나타내고 δ 3.86과 4.08의 doublet은 J 값이 9.7Hz로서 C-4에 결합되어 있는 두 수소의 피크들을 나타낸다. δ 5.47($J=2.8\text{Hz}$)의 doublet 피크는 H-1"을 나타내는 전형적인 β -D-apiofuranose의 형태를 보여 준다. 또한 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 109.09(C-1"), 78.64(C-2"), 80.66(C-3"), 75.79(C-4")와 65.31(C-5")의 피크들은 전형적인 β -D-apiofuranose의 피크들을 나타내며 Matsuda & Kikuchi(1995), Miserez 등(1996)이 보고한 β -D-apiofuranosyl의 NMR 값들과 동일하게 나타났으며 Agrawal(1989)이 정리한 (+)-catechin-7-O-apiofuranoside의 $^{13}\text{C-NMR}$ 값과 일치하였다.

화합물 3의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 3.3~3.9 사이의 피크들은 5탄당인 xylopyranose의 H-2"~H-5"의 수소들 signal을 보여 주고 있으며 δ 4.76에서 나타난 doublet은 J 값이 7.2Hz로서 H-1"의 피크를 나타낸다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 δ 67.14에서 나타난 signal은 xylopyranose의 C-5"을 나타내며 α 형의 xylopyranose 경우에는 62ppm 정도에서 나타내게 된다. 또한 δ 103.03의 피크는 C-1"으로서 C-1"이 hemiacetal 결합을 하는 β 형의 xylopyranose임을 알 수 있다. δ 74.92(C-2"), 77.98(C-3"), 71.30(C-4")의 피크들은 Agrawal(1989), Mizuno 등(1991)과 Ishii 등(1990)이 보고한 전형적인 β -D-xylopyranose

의 피크 형태와 동일함을 보여 준다. 이 두 화합물의 FAB+ 분자량 분석에서 $[M+H]^+$ 값은 m/z 423으로 (+)-catechin-7-O-apiofuranoside와 (+)-catechin-7-O-xylopyranoside의 분자량인 422와 동일한 값을 나타냈다.

3.2 Aesculetin(4)과 aesculin(5)

Aesculetin(4)은 물푸레나무 수피 아세톤-물(7:3) 추출물을 농축할 때 침전물로 다량 얻을 수 있었으며 aesculin(5)은 에틸아세테이트용성과 수용성에서 결정으로 단리되었다. 셀룰로오스 TLC 상에서 Aesculetin의 R_f 값은 0.67(solvent A), 0.22(solvent B)이었고 aesculin은 R_f 값이 0.62(solvent A), 0.30(solvent B)이었으며 UV 램프하에서는 갈색으로 보였고 발색제에는 반응하지 않았다.

이 두 화합물은 쿠마린의 기본골격을 가지고 있고 C-6과 C-7에 수산기가 결합되어 있는 형태로서 aesculin은 C-6의 수산기에 glucose가 결합된 배당체 화합물이다.

Aesculetin은 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 H-5와 H-8은 δ 7.1과 6.8에서 각각 singlet으로 나타나고 있으며 H-3과 H-4는 서로의 coupling에 의해서 δ 6.2와 δ 7.9에서 J 값이 9.5Hz인 doublet으로 나타났다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-4는 δ 143.8에서 그리고 C-3은 δ 112.9로 upfield되어 나타나고 있으며 C-6과 C-7은 각각 δ 145.5와 149.9에서 나타나고 있어 수산기가 결합되어 있음을 알 수 있으며 ester의 carbonyl 탄소는 δ 162.8에서 나타나고 있다.

Aesculin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 3.3~4.0의 복잡한 피크들은 β -D-glucopyranose의 H-2'~6'을 나타내며 δ 4.87의 doublet 피크는 전형적인 β -D-glucopyranose의 H-1'을 나타낸다. $^{13}\text{C-NMR}$ 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 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 H-8과 H-5는 δ 6.79와 7.42에서 singlet으로 나타났고 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-8과 C-5는 각각 δ 104.81과 116.86의 흡수피크를 나타냈으며 aesculetin보다 각각 1.4ppm과

4.3ppm씩 down되었다. C-7은 δ 144.72에서 나타났고 C-6은 δ 153.51에서 나타나고 있으며 aesculetin보다 3.6ppm 정도 down되어 나타났으며 이것은 C-6에 glucose가 결합되어 있음을 나타내며 Matsuda와 Kikuchi(1995)가 보고하였던 aesculin의 값과 동일하게 나타났다. EI-MS 분석에서 $[M]^+$ 의 m/z는 340으로 나타났으며 aesculin의 분자량인 340과 동일한 값을 주었다.

Aesculetin은 항이질 효과, 항곰팡이 효과, 항염증 효과, 항말라리아 효과, 항종양 효과 및 항효모 효과 등의 약효가 있는 것으로 알려져 있으며 이질, 설사약으로도 개발되어 있다(Rowe, 1989).

Aesculin은 물푸레나무속의 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)이 언급하였다.

3.3 (+)-catechin(4 α →8)-(+)-catechin(8)

(+)-Catechin(4 α →8)-(+)-catechin(8)은 procyanidin B-3으로 명명된 화합물로서 느릅나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획에서 분리되었다. 셀룰로오스 TLC 상에서의 R_f값은 0.38(solvent A), 0.50(solvent B)으로 나타났고 UV 램프하에서는 갈색으로 보였으며 vanillin-HCl-EtOH 발색제에 적색으로 반응하였다.

NMR 상에서 procyanidin 이량체 화합물들은 free rotation에 의하여 각각 두 개씩의 복잡한 피크로 나타나며 결합 단위체들의 입체구조와 단위체 사이의 결합형태에 따라 C-2와 C-3의 화학적 이동값들이 특징적으로 차이를 나타내고 있으므로 이를 비교함으로써 구조를 결정할 수 있다.

¹H-NMR에서 하부의 C-4"에 결합된 두 수소는 δ 2.49와 2.76에서 각각 double doublet으로 나타나고 있으며 J값은 각각 8.0과 16.2Hz 그리고 5.7과 16.4Hz로써 (+)-catechin의 특징을 나타내고 있다. 상부의 H-4는 δ 4.25에서 doublet으로 나타나고 있으며 J값은 9.5Hz로서 α 결합되어 있음을 나타낸다. 상부의 H-3은 free rotation에 의하여 δ 3.79와 4.08에서 triplet으로 나타남으로 C-4가 하부 단위체와 결합되어 있음을 알 수 있다. 하

부의 H-6"은 δ 5.94(m)와 6.07(M)에서 나타나고 있으며 H-8"과의 meta coupling이 없는 singlet으로 나타났다.

¹³C-NMR에서 δ 29.03과 38.85의 피크는 각각 하부 및 상부의 C-4"와 C-4로서 상부의 C-4가 하부 단위체와 결합되어 downfield로 이동되어 있음을 나타낸다. δ 69.18, 73.97, 82.71과 84.21의 피크들은 상, 하부의 C-2와 C-3으로써 (+)-catechin과 (+)-catechin이 결합된 procyanidin B-3의 특징적인 피크를 나타내고 있다. 하부의 C-8"은 약 10ppm 정도가 downfield로 이동된 δ 108.46에서 나타남으로서 C-8"에 상부의 C-4가 α 결합되어 있음을 알 수 있다.

이 화합물의 NMR값들은 Foo 등(1982), Karchesy 등(1980), Hemingway 등(1983), Kolodziej(1985) 및 송·오(1996)가 보고한 procyanidin B-3와 일치하였다.

4. 결론

우리 나라에 많이 자생하며 예로부터 민간에서 약용으로 이용되어 온 물푸레나무와 느릅나무를 대상으로 수피를 아세톤-물(7:3) 용액으로 추출한 후 추출액을 hexan용성, 클로로포름용성, 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 vanillin-HCl-EtOH 발색제에 반응하여 나타나는 색을 관찰하였다.

물푸레나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획으로부터 다량의 쿠마린 파생물인 aesculetin(13.3g)과 aesculin(41mg) 및 에스테르형 화합물인 ligstroside(46mg)와 oleuropein(980mg)을 단리하였고 수용성 분획에서는 aesculin(70mg)을 단리하였다.

느릅나무 수피 에틸아세테이트용성 분획으로부터 (+)-catechin(418mg), (+)-catechin-7-O- β -D-apiofuranoside(3.22g), (+)-catechin-7-O- β -

D-xylopyranoside(109mg)과 procyanidin B-3인 (+)-catechin(4 α →8)-(+)-catechin(59mg)을 단리하였다.

물푸레나무 수피 추출물의 주성분은 쿠마린 화합물인 aesculetin으로 구성되며 느릅나무의 수피 추출물의 주성분은 (+)-catechin 및 그 배당체 화합물인 (+)-catechin-7-O- β -D-apiofuranoside로 생략된다.

참 고 문 헌

1. Agrawal, P. K. 1989. Carbon ¹³C-NMR of flavonoids. Elsevier Science Publishing Company INC : 96~123.
2. Foo, L. Y. and L. J. Porter. 1982. Leucocyanidin: Synthesis and properties of(2R, 3S, 4R)-(+)-3,4,5,7,3', 4'-hexahydroxyflavan. *Phytochemistry*. 21(12) : 2947~2952.
3. Ham, Y. H. and Y. S. Bae. 1995. Flavonoid extractives of *Populus albaglandulosa*, Mokchaekonghak. 23(2) : 94~99.
4. Hemingway, R. W., J. J. Karchesy., G. W. McGraw and R. A. Wielesek. 1983. Heterogeneity of interflavanoid bond location in loblolly pine bark procyanidins. *Phytochemistry*. 22(1) : 275~281.
5. Ishii, T., T. Hiroi and J. R. Thomas. 1990. Feruloylated xyloglucan and p-coumaroyl arabinoxylan oligosaccharides from bamboo shoot cell-walls. *Phytochemistry*. 29(6) : 1999~2003.
6. Karchesy, J. J. and R. W. Hemingway. 1980. Loblolly pine bark polyflavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 28 : 222~228.
7. Kolodziej, H. 1985. The First 2,3-trans-3,4-cis procyanidin. *Phytochemistry*. 24(10) : 2460~2462.
8. Matsuda, N. and M. Kikuchi. 1995. A Coumarin glycoside from *Lonicera gracilipes* var. *glandulosa*. *Phytochemistry*. 38(3) : 803~804.
9. Miserez, F., O. Potter., A. Marston., G. M. Mungai and K. Hostettmann. 1996. Flavonol glycosides from *Vernonia galamensis* ssp. *nairobiensis*. *Phytochemistry*. 43(1) : 283~286.
10. Mizuno, M., Y. Kanie., M. Inuma., T. Tanaka and F. A. Lang. 1991. Two flavonol glycosides C and D, from the underground parts of *Vancouveria hexandra*. *Phytochemistry*. 30(8) : 2765~2768.
11. Rowe, J. W. 1989. Natural Products of Woody Plants II : chemicals extraneous to the lignocellulosic cell wall, Springer-Verlag. pp. 1073, 1075~1080, 1093.
12. 동의학연구소. 1994. 동의보감. 여강출판사. pp. 2798~2815.
13. 송홍근, 오성진. 1996. 소나무 수피 프로안토시아닌(Proanthocyanidin)의 분리 및 구조분석. *목재공학*. 24(2) : 81~93.
14. 이상극, 함연호, 배영수. 1998. 물푸레나무의 Oleuropein과 Ligstroside, *목재공학*. 26(4) : 56~60.
15. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 1998. *중약대사전*. 도서출판 정담. 7, 8 : 4319~4321, 5194~5199.