

화분(花粉)의 추출성분¹

이상극² · 김진규² · 함연호³ · 박재균⁴ · 배영수²

Extractives from Pollen¹

Sang-Keug Lee², Jin-Kyu Kim², Yeon-Ho Ham³, Jae-Kun Park⁴
and Young-Soo Bae²

요 약

화분을 98%의 EtOH로 추출하고 hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, 그리고 H₂O용성으로 분획하여 동결건조 시켰다. 그 중에서 EtOAc 분획을 Sephadex LH-20으로 충전한 칼럼에서 MeOH와 EtOH-hexane혼합액을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 단리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 NMR스펙트럼을 사용하여 정확한 구조규명을 하였고 FAB-MS로써 분자량을 측정하였다. 주로 quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside와 kaempferol-3-O-β-D-rutinoside같은 flavonol 유도체들과 flavanonol계 화합물인 aromadendrin-5-methyl ether, 그리고 acid 화합물인 *p*-methoxybenzoic acid가 적은 양으로 단리 되었다.

ABSTRACT

2kg of pollen extracted with EtOH(98%), concentrated, and fractionated with a series of hexane, CH₂Cl₂, EtOAc and H₂O on a separatory funnel. Each fraction was freeze dried to give dark-brown powder and EtOAc soluble portion of the powder was chromatographed on a Sephadex LH-20 column using a series of aqueous methanol as eluents. Spectrometric analysis such as NMR and FAB-MS including TLC were performed to characterize the structures of isolated compounds.

Pollen contained a small amount of flavonol derivatives such as quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside and kaempferol-3-O-β-D-rutinoside in addition to a small amount of flavanonol compound such as aromadendrin-5-methyl ether and acid compound such as

Keywords : pollen, extractives, flavanonol derivatives, flavanonol, *p*-methoxybenzoic acid.

1. 접수 2003년 4월 20일 Received on April 20, 2003.
이 논문은 2002년 중소기업청 산·학·연 공동기술개발 컨소시엄 연구비로 수행되었음.
2. 강원대학교 산림과학대학, College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.
3. 강원도 산림개발연구원, Forest Research Institute of Kangwon Province, Chuncheon 200-140, Korea.
4. 영동기능식품 주식회사, YoungDong Functional Food, Yanggu, 374-5, Korea.

서론

화분(花粉, Pollen)은 종자식물의 수술의 꽃밥속에 만들어지는 생식세포로서 꽃가루라고도 한다. 모양은 구형, 난형, 타원형 등의 형태이며 외막 표면에 있는 색소의 빛깔에 따라 황색, 적색 등 여러 가지 색을 나타낸다. 특히, 벌에 의하여 얻어지는 화분은 꿀, 벌의 타액분비물 그리고 각양각색의 꽃가루가 혼합되어 만들어진 벌들의 양식으로서 flavonoid 등을 포함하여 많은 약리유용성분들이 함유되어 있어 인체에 흡수시에는 생리활성 효과가 뛰어난 것으로 알려지고 있다

현대 사회는 환경오염 및 사회적 스트레스 등에 의한 성인병과 암 등 난치병의 발생이 급증함으로 인하여 건강에 대한 관심이 고조되고 있다. 최근 식물체로부터 얻어진 천연물을 이용한 바이오 제약 및 생리활성 강화 기능성식품 등의 개발에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며 이에 대한 일반인들의 수요가 점차 증가하여 시장이 확대되어 가고 있다.

따라서 본 연구는 화분에 함유되어 있는 추출성분을 분리하고 정확한 구조를 규명함으로써 건강보조식품으로서 약리작용을 가지는 화합물들에 대한 화학적인 기초자료를 얻기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

2.1 공시재료

2002년 8월 강원도 양구군 양구읍 영동기능성식품에서 분양받은 화분을 공시재료로 사용하였다.

2.2 추출물의 조제 및 분리

화분 분말 2.363kg을 10ℓ의 유리용기에 넣고 98% 에탄올 용액에 침적하여 실험실에서 약 3일

간 추출하였으며, 충분한 양을 얻기 위하여 이와 같은 조작을 3회 반복 실시하여 농축하였다. 농축된 추출물은 분획갈때기 상에서 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성 분획으로 분리하고 농축한 후 동결건조하여 헥산용성 73.6g, 메틸렌클로라이드용성 22.7g, 에틸아세테이트용성 8.0g, 수용성 분획물 276.6g을 얻을 수 있었다.

2.3 화합물의 분리 및 단리

화분에서 얻어진 분말상의 EtOAc용성 분획으로부터 화합물을 단리, 정제하기 위하여 반복적인 칼럼크로마토그래피를 실시하였으며 충진물질로는 Sephadex LH-20을 사용하였고 용리용매는 MeOH 수용액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector(Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았으며 분리된 물질의 확인은 셀룰로오스 박층크로마토그래피(Thin Layer Chromatography)를 이용하여 확인하였다. 전개용매로 6% AcOH(solvent A)과 *t*-BuOH-HOAc-H₂O(3:1:1, v/v/v, solvent B)을 사용하였으며 TLC상에 전개된 화합물은 UV 램프(ENF-240C)로 관찰하였고, vanillin-HCl-EtOH 용액을 전개된 TLC 판에 분무하여 발색되는 색깔을 관찰하였다. 또한 단리화합물의 순도를 확인하기 위하여 solvent A와 solvent B를 순차적으로 교차하여 전개하는 2차원 박층크로마토그래피를 실시하였다. 한편, 결정 또는 침전물이 생기는 경우에는 재결정법을 실시하여 정제하였다.

EtOAc용성 분획물 8.011g 을 유리칼럼에 주입하고 MeOH-H₂O(1:1, v/v)를 용리용매로 하여 1차 분리를 실시하여 6개의 부분으로 분리하였으며 WHE로 표기하였다. 동결 건조된 양은 WHE-1 6.15g, WHE-2 0.50g, WHE-3 0.46g, WHE-4 0.07g, WHE-5 0.13g, WHE-6 0.05g 이었으며, 이 중에서 WHE-6을 NMR 스펙트럼을 분석한 결과 화합물 1(querctin-3-O-β-D-glucopyranoside)임을 알 수 있었다. 먼저

WHE-3을 MeOH-H₂O(1:3, 1:5, v/v)를 용매로 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시한 결과 WHE-331에서 화합물 2(kaempferol-3-β-D-rutinoside 74.8mg)를 얻을 수 있었고, WHE-4를 MeOH-H₂O(1:5, v/v)로 녹이는 과정에서 결정이 생성되어 재결정법을 사용하여 정제한 결과 화합물 3(aromadendrin-5-methyl ether 14mg)을 얻을 수 있었다. 또한, WHE-5를 MeOH-H₂O(1:3, v/v)으로 녹이는 과정에서 역시 결정이 생성되어 재결정법을 사용하여 정제한 결과 화합물 1(querctin-3-O-β-D-glucopyranoside 66.8mg)을 얻을 수 있었다. 한편, WHE-32를 MeOH-H₂O(1:5, v/v)를 용매로 사용하여 재크로마토그래피를 실시한 결과 WHE-321에서 화합물 4(*p*-hydroxybenzoic acid 12.3mg)를 얻었고, WHE-323에서 화합물 2(kaempferol-3-β-D-rutinoside 55.3mg)를 얻을 수 있었다.

2.4 화합물의 구조 결정

단리된 화합물들의 구조결정은 강원대학교 공동실험실습관의 400MHz NMR spectrophotometer(Bruker ADVANCE DPX)를 사용하여 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR을 측정하였고 분석용매로는 CD₃OD와 DMSO를 사용하였다. 분리된 화합물의 분자량 분석은 Mass Spectrophotometer(VG70-VSEQ)를 이용하여 FAB-MS분석을 실시하였다.

2.5 분리된 화합물

본 실험에서 분리된 화합물들의 화학적 이동값(R_f), NMR Data 및 분자량은 다음과 같다.

2.5.1 화합물 1 : quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside

R_f : 0.60(solvent A), 0.19(solvent B).

FAB-MS : [M+H]⁺ m/z 465.

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 3.22~3.75(5H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 5.25(1H, d, J=7.3Hz,

H-1''), 6.21(1H, d, J=1.9Hz, H-6), 6.40(1H, d, J=2.0Hz, H-8), 6.90(1H, d, J=8.4Hz, H-5'), 7.59(1H, dd, J=2.1Hz, 8.46Hz, H-6'), 7.72(1H, d, J=2.0Hz, H-2').

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 62.55(C-6''), 71.21(C-4''), 75.74(C-2''), 78.12(C-5''), 78.39(C-3''), 94.75(C-8), 99.92(C-6), 104.34(C-1''), 105.70(C-10), 116.03(C-2'), 117.59(C-5'), 123.07(C-6'), 123.24(C-1'), 135.62(C-3), 145.91(C-3'), 149.87(C-4'), 158.46(C-9), 159.04(C-2), 163.03(C-5), 166.01(C-7), 179.49(C-4).

2.5.2 화합물 2 : kaempferol-3-O-β-D-rutinoside

R_f : 0.69(solvent A), 0.61(solvent B).

FAB-MS : [M+H]⁺ m/z 595.

¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 0.86(3H, d, J=6.2Hz, H-Me(rham)), 3.71~3.91(9H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6'', 2''', 3''', 4''', 5'''), 5.13(1H, brs, H-1''), 5.64(1H, d, J=7.4Hz, H-1''), 6.07(1H, d, J=1.9Hz, H-6), 6.27(1H, d, J=2.0Hz, H-8), 6.79(2H, d, J=8.7Hz, H-3', 5'), 7.94(2H, d, J=8.8Hz, H-2', 6').

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 16.53(C-Me), 61.61(C-6''), 68.91(C-5'''), 70.80(C-3'''), 71.27(C-2'''), 71.38(C-4''), 73.02(C-4'''), 77.35(C-2''), 77.92(C-5''), 79.01(C-3''), 93.55(C-8), 98.67(C-6), 99.25(C-1'''), 101.60(C-1''), 104.96(C-10), 115.08(C-3', 5'), 122.11(C-1'), 131.10(C-2', 6'), 133.42(C-3), 157.39(C-2), 157.49(C-9), 160.29(C-4'), 162.17(C-5), 164.62(C-7), 178.37(C-4).

2.5.3 화합물 3 : aromadendrin-5-methyl ether

R_f : 0.80(solvent A), 0.35(solvent B).

FAB-MS : [M+H]⁺ m/z 303.

¹H-NMR(400MHz, δ, DMSO) : 3.82(3H, s, H-O Me), 4.36(1H, d, J=11.3Hz, H-3), 4.99(1H, d, J=11.2Hz, H-2), 5.98(1H, brs, H-6), 6.14(1H, brs, H-8), 6.83(2H, d, J=8.1Hz, H-3', 5'), 7.35(2H, d, J=8.1Hz, H-2', 6').

¹³C-NMR(100MHz, δ, DMSO) : 56.56(C-OMe),

73.30(C-3), 78.16(C-2), 94.19(C-8), 96.31(C-6), 103.30(C-10), 115.72(C-3',5'), 130.17(C-2',6'), 131.74(C-1'), 158.48(C-4'), 162.96(C-9), 164.59(C-5), 165.59(C-7), 190.82(C-4).

2.5.4 화합물 4 : *p*-methoxybenzoic acid

R_f : 0.75(solvent A), 0.36(solvent B).

FAB-MS : [M+H]⁺ m/z 153.

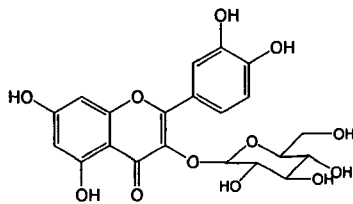
¹H-NMR(400MHz, δ, CD₃OD) : 3.87(3H, br s, H-OMe), 6.76(2H, d, J=8.3Hz, H-3,5), 7.85(2H, d, J=8.5Hz, H-2,6).

¹³C-NMR(100MHz, δ, CD₃OD) : 56.35(C-OMe), 115.61(C-3,5), 124.63(C-1), 132.65(C-2,6), 161.96(C-4), 173.51(C-6).

결과 및 고찰

화합물의 에틸아세테이트용성 분획 8.011g을 Sephadex LH-20을 사용하여 연속적인 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 네 개의 화합물을 분리하였으며 이들 화합물은 2D-TLC를 이용하여 단일 물질의 여부를 확인한 후 NMR 및 FAB-MS분석으로 그 구조를 결정하였다.

3.1 화합물 1(querctin-3-O-β-D-glucopyranoside)



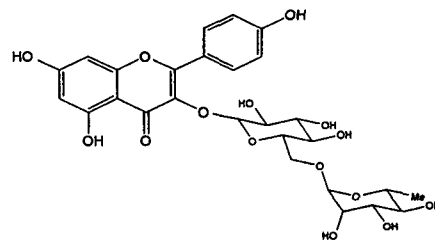
화합물 1은 전형적인 flavonol유도체로서 aglycon이 quercetin으로 C-3의 위치에 glucose가 결합된 형태의 배당체 화합물이다. TLC 상에서 화학적 이동값 R_f는 0.60(solvent A), 0.19(solvent B)로 나타났다.

¹H-NMR spectrum에서 7.72(d, J=2.0Hz), 7.59(dd, J=2.1, 8.4Hz) 및 6.90(d, J=8.4Hz)ppm의 피크들은 전형적인 flavonol의 catechol B환의 형태임을 보여주며, 6.40과 6.21ppm의 meta coupling된 피크들은 flavonol의 phloroglucin-

ol A환형의 H-8과 H-6임을 명확히 나타낸다(함, 2000; Oleszek *et al.*, 2002). 3번 위치에 결합하고 있는 glucose의 H-1"은 5.25ppm으로 downfield되어 doublet peak로 나타나고 있으며 J값이 7.38Hz로서 β-D 형태임을 알 수 있고, glucose의 나머지 peak들은 3.22~3.75ppm에서 나타나고 있다(Agrawal, 1992; Oleszek *et al.*, 2002).

또한 ¹³C-NMR spectrum에서 179.49ppm은 flavonol의 carbonyl을 보여주며, A환의 C-7과 C-5는 각각 166.01ppm과 163.03ppm에서 나타나고 C-6과 C-8은 99.92ppm과 94.75ppm에서 피크를 나타내고 있는데 이것은 전형적인 phloroglucinol A환을 보여주는 것이다(함, 2000; Oleszek *et al.*, 2002; Agrawal, 1989). C-2와 C-3은 이중결합을 하고 있기 때문에 159.04ppm과 135.62ppm에서 피크를 나타내고 있으며, 이것은 함(2000)이 보고한 quercetin보다 각각 11ppm과 2ppm정도 downfield된 것으로 보아 glucose가 C-3 위치에 결합되어 있음을 나타내는 증거이다. B환에서 수산기가 결합되어 있는 C-3'와 C-4'는 145.91과 149.87ppm에서, 수산기가 결합되지 않은 C-2',5',6'는 각각 116.03ppm, 117.59ppm, 123.07ppm에서 peak를 보여주고 있으며 catechol B환의 형태를 나타내고 있다(함, 2000). C-3에 결합되어 있는 glucose의 C-1"은 104.34ppm에서 downfield되어 나타나고 나머지 탄소들은 60~70ppm부근에서 glucose탄소들의 전형적인 피크를 나타내고 있다(Agrawal, 1992; Harborne, 1994; Oleszek *et al.*, 2002). FAB-MS 스펙트럼은 분자량 [M+H]⁺가 465로서 이 화합물의 분자량 464와 정확히 일치하고 있다.

3.2 화합물 2(kaempferol-3-O-β-D-rutinoside)



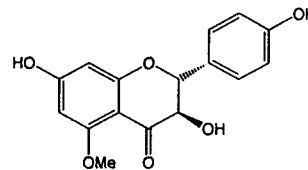
화합물 2는 노란색의 분말로서 결정 형태로 단리되었으며 TLC상에서 R_f 값은 0.69(solvent A), 0.61(solvent B)이었고, UV램프 하에서는 갈색으로 관찰되었다. 이 화합물은 glucose에 rhamnose가 결합을 한 rutinose가 aglycon인 kaempferol의 C-3위치에 결합된 형태의 화합물이다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.64ppm의 피크는 C-3에 결합되어 있는 glucose의 H-1"에 해당되는 것으로 downfield로 이동하여 doublet으로 나타나고 있는데, J 값이 7.4Hz로 β -D-glucose임을 알 수 있고 5.13ppm의 피크는 rhamnose의 H-1"을 나타내며 α -L-rhamnose의 형태임을 알 수 있다. 나머지 glucose와 rhamnose의 수소들이 3.71~3.91ppm에서 매우 복잡한 multiplet으로 나타나고 있다. rhamnose의 methyl기는 0.86ppm에서 전형적인 피크를 주고 있다(Ham 등, 1997; HO *et al.*, 2002). 한편, B환은 H-2',6'과 H-3',5'이 서로 대칭구조를 하고 있기 때문에 6.94와 6.79ppm에서 하나의 피크를 나타내고 있으며, 6.27과 6.07ppm의 *meta* coupling된 피크들은 flavonol의 phloroglucinol A환형의 H-8과 H-6임을 명확히 나타낸다(Harborne, 1994; HO *et al.*, 2002).

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 101.60ppm의 피크는 glucose의 C-1"의 피크로서 C-3과 결합을 하고 있기 때문에 downfield되어 나타나고 있으며 나머지 C-2", 3", 4", 5", 6"에 해당하는 피크들이 각각 77.35ppm, 79.01ppm, 71.38ppm, 77.92ppm, 61.61ppm에서 나타나고 있다. 또한, 99.25ppm의 피크는 glucose의 C-6"에 결합하고 있는 rhamnose의 C-1"의 피크이며 나머지 C-2", 3", 4", 5"의 피크들은 71.71ppm, 70.80ppm, 73.02ppm, 68.91ppm에서 나타나고 있고, methyl기 탄소가 16.53ppm에서 전형적인 피크를 보이고 있다. 이상은 HO 등(2002)이 보고한 화합물과 일치하고 있다. 한편, 178.37ppm은 C-4의 carbonyl을 보여주며, C-2와 C-3은 이중결합을 하고 있기 때문에 157.39ppm과 133.42ppm에서 downfield되어 나타나고 있다. A환의 C-7과 C-5는 각각 164.62ppm과 162.17ppm에서

나타나고 C-6과 C-8은 98.67ppm과 93.55ppm에서 피크를 나타내고 있는데 이것은 전형적인 phloroglucinol A환을 보여주는 것이다. 페놀환 형태인 B환은 서로 대칭이기 때문에 131.10과 115.08ppm에서 C-2',6'과 C-3',5'의 피크가 하나의 큰 피크로 나타나고 있으며 수산기가 결합한 C-4'은 160.29ppm에서 피크를 보이고 있다(Ho *et al.*, 2002; Agrawal, 1989; Harborne, 1994). FAB-MS 스펙트럼에서 분자량 분석치가 $[M+H]^+$ m/z 595로서 이 화합물의 분자량 594와 일치하고 있다.

3.3 화합물 3(aromadendrin-5-methyl ether)



화합물 3은 셀룰로오스 2차원 박층크로마토그래피 상에서의 R_f 값은 0.86(solvent A)과 0.35(solvent B)로 나타났으며 UV 램프 하에서는 갈색으로 나타났고 발색제에 의한 발색은 나타나지 않았다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 6.83($J=8.1\text{Hz}$)과 7.35($J=8.1\text{Hz}$)ppm의 doublet 피크들은 B환의 구조에서 H-2'과 H-6'이, H-3'과 H-5'이 서로 대칭으로 구성되어 있고, H-2',6'와 H-3',5'이 서로 *ortho* coupling 하고 있음을 알 수 있으며 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-2'과 6' 및 C-3'과 5'이 130.17과 115.72ppm에서 단일 피크로 다른 피크들보다 크게 나타난 것은 전형적인 phenol형태로 구성되어 있음을 나타낸다(Agrawal, 1989; Ham *et al.*, 1995).

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼의 4.99과 4.36ppm의 doublet 피크들은 H-2와 H-3으로서 J 값이 11.2, 11.3Hz로 서로 *trans*의 형태를 갖는 flavanone의 H-2와 H-3의 특징적인 피크이다.

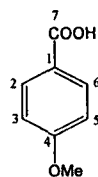
$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-2와 C-3이 83.16과

73.30ppm 나타난 것은 전형적인 C-3에 수산기가 결합되어 있는 flavanonol의 C환 피크임을 알 수 있다(Ham, 2000; Rawat *et al.*, 1998). 또한 C-5에 결합을 하고 있는 methoxyl기의 전형적인 ¹H-NMR 스펙트럼의 피크가 3.82ppm에서 나타나고 있으며, C-4의 carbonyl 피크는 기존의 aromadendrin의 그것보다 8ppm정도 upfield된 190.82ppm에서 나타나고 있는 것으로 보아 C-5에 methoxyl기가 결합을 하고 있다는 증거임을 알 수 있다(Bilia *et al.*, 1993).

¹H-NMR 스펙트럼에서 완전하게 두 개의 피크로 갈라지지 않은 5.98ppm과 6.14ppm의 singlet 피크들은 H-6과 H-8을 나타내는 것으로 A환이 phloroglucinol 형태임을 나타내는 것을 알 수 있다. 또한 C-5, C-7 및 C-9의 ¹³C-NMR 스펙트럼 값은 각각 164.59, 165.59, 162.96ppm 으로서 수산기가 결합되어 있음을 나타낸다.

그러므로 이 화합물은 aromadendrin의 C-5 위치에 methoxyl기가 결합되어 있는 aromadendrin-5-methyl ether임을 알 수 있었으며 Bilia 등(1993)이 보고한 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR 데이터와 정확히 일치하였고, FAB-MS 분석에서는 [M+H]⁺의 m/z가 303으로서 이 화합물의 분자량 302와 정확히 일치하였다.

3.4 화합물 4(p-methoxybenzoic acid)



화합물 4는 셀룰로오스 2차원 박층크로마토그래피 상에서의 R_f 값은 0.75(solvent A)와 0.63(solvent B)으로 나타났으며 UV 램프 하에서는 갈색으로 나타났고 발색제에 의한 발색은 나타나지 않았다.

¹H-NMR 스펙트럼에서 6.75(J=8.3Hz)과 7.85

ppm(J=8.5Hz)의 두 개의 doublet 피크는 H-2,6과 H-3,5이 각각 ortho coupling된 것으로 적분값으로 보아 서로 대칭형태의 피크임을 알 수 있고 methoxyl피크가 3.87ppm에서 전형적인 피크를 나타내고 있다. 이것은 Ali 등(1999)이 보고한 동일한 화합물의 ¹H-NMR 값과 일치하고 있다.

¹³C-NMR 스펙트럼에서 C-2,6과 C-3,5가 각각 132.65와 115.61ppm에서 하나의 큰 대칭피크를 나타내고 있으며 methoxyl기가 결합한 C-4는 161.96ppm에서 나타나고 있는데, 이것은 함(2000)이 보고한 picein의 피크와 거의 유사한 형태를 보이고 있다. 한편 C-1은 C-4에 glucose가 결합한 picein보다 8ppm정도 upfield되어 124.63ppm에서 나타나고 있으며 C-7은 173.51ppm에서 전형적인 ketone기의 피크를 보여주고 있다. 또한, FAB-MS 분석에서는 [M+H]⁺의 m/z가 153으로서 이 화합물의 분자량 152와 정확히 일치하였다.

결론

화합물의 에틸아세테이트용성 분획을 sephadex x LH-20으로 충전한 칼럼크로마토그래피를 실시하여 네 개의 화합물을 단리 할 수 있었는데, flavonol 유도체 화합물인 quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside(121.91mg), kaempferol-3-O-β-D-rutinoside(74.8mg)와 flavanonol계 화합물인 aromadendrin-5-methyl ether(14.0mg), 그리고 acid계 화합물인 p-methoxybenzoic acid(12.3mg)등이 단리되었다. 특히, kaempferol-3-O-β-D-rutinoside와 aromadendrin-5-methyl ether는 주로 결정 형태로 소량이 단리 되었다.

참고 문헌

1. Agrawal, P. K., 1989, Carbon 13C-NMR of flavonoids, Elsevier.
2. Agrawal, P. K., 1992, NMR spectroscopy

- in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides, *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 10, pp. 3307~3330.
3. Ali, M. S., M. Saleem, F. Akhtar, M. Jahangir, M. Parvez, V. U. Ahmad, 1999, Three *p*-cymene derivatives from *Zataria multiflora*, *Phytochemistry*, Vol. 52, pp. 685~688.
 4. Bilia, A. R., S. Catalano, L. Pistelli and I. Morelli, 1993, Flavonoids from *Pyracantha coccinea* roots, *Phytochemistry*, Vol. 33, No. 6, pp. 1449~1452.
 5. Ham, Y. H., W. G. Park, S. S. Han and Y. S. Bae, 1997, Flavonoid glycosides from needles of *Taxus cuspidata*(Taxaceae), *Mokchaekonghak*, Vol. 25(2) : 45~51.
 6. Ham, Y. H. and Y. S. Bae, 1995, Flavonoid extractives of *Populus albaglandulosa*, *Mokchaekonghak*, Vol. 23(2): 94~99.
 7. Harbone J. B., 1994, *The Flavonoids: advances in research*, Chapman & Hall.
 8. Ho, H. M., R. Y. Chen, L. K. Leung, F. L. Chan, Y. Huang and Z. Y. Chen, 2002, Difference in flavonoid and isoflavone profile between soybean and soy leaf, *Biomed Pharmacother*, Vol. 56, pp. 289~295.
 9. Oleszek, W., A. Stochmal, P. Karolewski, A. M. Simonet, F. A. Macias and A. Tava, 2002, Flavonoids from *Pinus sylvestris* needles and their variation in trees of different origin grown for nearly a century at the same area, *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 43.1/ BSE1023.
 10. Rawat, M. S. M., G. Pant, D. Prasad, R.K. Joshi, C. B. Pande, 1998, Plant growth inhibitors(Proanthocyanidins) from *Prunus armeniaca*, *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 26, pp. 13~23.
 11. 함연호, 2000, 사시나무屬과 버드나무屬 主要 樹種 樹皮의 抽出成分에 關한 研究, 강원대학교 박사학위논문.