

수목추출물의 생리활성에 관한 연구(XI)*1 - 주목(*Taxus cuspidata*) 심재 추출성분 및 항산화활성 -

이 학 주*2† · 이 성 숙*2 · 최 돈 하*2 · 권 영 한*3

Studies on Biological Activity of Wood Extractives (XI)*1 - Compounds from Heartwood of *Taxus cuspidata* and Their Antioxdative Activities -

Hak-Ju Lee*2 · Sung-Suk Lee*2 · Don-Ha Choi*2 · Yeong-Han Kwon*3

요 약

항산화활성이 우수한 주목 심재 에탄올 추출물로부터 Sephadex LH-20, centrifugal partition chromatography (CPC), silica gel column chromatography 등을 이용하여 5종의 화합물을 분리하였으며, NMR, Mass spectrometry 등의 기기분석 결과 taxane 화합물인 taxusin를 비롯하여 lignan인 isolariciresinol (4, 4', 9, 9'-tetrahydroxy-3', 5-dimethoxy-2, 7'-cyclo lignan), lariciresinol (4, 4', 9-trihydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 9'-epoxylignan), taxiresinol (3, 4, 4', 9-tetrahydroxy-3'-methoxy-7, 9'-epoxylignan) 및 isotaxiresinol (3', 4, 4', 9, 9'-pentahydroxy-5-methoxy-2, 7'-cyclo lignan)을 각각 동정하였다. 이들 분리된 화합물의 프리라디칼 소거능을 측정하여 항산화활성을 검정한 결과 taxusin을 제외한 3종의 lignan 화합물인 isolariciresinol, lariciresinol, isotaxiresinol 모두 천연항산화제 및 합성항산화제보다 높은 라디칼 소거능을 나타내어 항산화활성이 우수한 것으로 판명되었다. 이상의 결과 주목의 심재 에탄올 조추출물의 높은 항산화활성은 이들 성분에 기인하는 것으로 사료되었다.

ABSTRACT

Antimicrobial and antioxidative activities of heartwood extractives of domestic species were investigated to develop a natural fungicide or preservative. Four lignan derivatives and one taxane were isolated from heartwood of *Taxus cuspidata* which has been selected due to its high antioxidative activity among the

*1 접수 2002년 6월 7일, 채택 2002년 7월 9일

*2 임업연구원 화학미생물과 Div. Wood Chemistry & Microbiology, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

*3 국립수목원 National Arboretum, Soheul-eup Pocheon-gun Gyeonggi-do 487-821, Korea

† 주저자(corresponding author) : 이학주(e-mail: leehj99@foa.go.kr)

tested species. The chemical structures were identified as: taxusin, isolariciresinol (4, 4', 9, 9'-tetrahydroxy-3', 5-dimethoxy-2, 7'-cyclo lignan), lariciresinol (4, 4', 9-trihydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 9'-epoxylignan), taxiresinol (3, 4, 4', 9-tetrahydroxy-3'-methoxy-7, 9'-epoxylignan) and isotaxiresinol (3', 4, 4', 9, 9'-pentahydroxy-5-methoxy-2, 7'-cyclo lignan) on the basis of spectroscopic data and their chemical correlations.

According to the results of free radical scavenging activity, isolariciresinol, lariciresinol and isotaxiresinol showed higher radical scavenging activity than those of α -tocopherol and butylated hydroxytoluene (BHT), the strongest natural and synthetic antioxidants. However, taxusin did not show any free radical scavenging activity. In this regard, it could be inferred that high antioxidative activity of extractives of *T. cuspidata* was derived from isolariciresinol, lariciresinol and isotaxiresinol.

Keywords: *Taxus cuspidata*, Taxaceae, taxusin, isolariciresinol, lariciresinol, taxiresinol, isotaxiresinol

1. 서 론

주목(*Taxus cuspidata*)은 주목과에 속하는 상록교목으로 우리나라 전역의 표고 700~2,500 m에 이르는 지역에 자생하며, 중국, 일본에도 널리 분포한다. 일반적으로 내한성이 강하고 내음력도 좋으나 공기중에 습기가 많고 토심이 깊은 비옥한 토양에서 잘 자라며, 목재는 조각재, 공예재, 가구재 및 건축내장재 등으로 널리 사용되고 있다(이, 1993).

주목과 수목의 성분에 관한 연구는 오래 전부터 시작되어 최근까지도 많은 연구가 이루어져 taxane 유도체인 normal taxanes, 3, 11-cyclotaxanes, 11 (15→1)-abeotaxanes, 2 (3→20)-abeotaxanes, 11 (15→1), 11 (10→9) bisabeotaxanes, pretaxanes를 비롯한 non-taxoid higher isoprenoids 화합물과 lignans, flavonoids, sugar derivatives를 비롯한 미량 화합물 등 370여종의 성분들이 단리·동정되었다(Luciano *et al.*, 1993; Giovanni *et al.*, 1992; Das *et al.*, 1993; Virinder *et al.*, 1999). 그리고 이 수종에서 분리된 성분의 생리활성에 관해서는 taxol의 항암활성에 관한 연구가 집중적으로 이루어졌으며 최근에는 toxol의 생합성 과정에 관여하는 효소에 대한 연구(Walker & Croteau, 2000a; 2000b)가 활발하게 진행되고 있다.

본 연구는 조추출물의 항산화활성이 우수한 것으로 나타난 주목으로부터(이 등, 1999) 항산화물질을 탐색하고자 물질을 단리하고, NMR 등의 분광학적 방법으로 그들의 화학구조를 동정하고자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

공시수종으로는 1996년 5월 임업연구원 남해시험림(경남 남해군 이동면)에서 채취한 수령 30년생(흉고직경 28 cm)의 주목을 사용하였다.

2.2. 추출 및 용매분획

박피한 주목을 심·변재로 나누어 음건시킨 후 분쇄기로 분쇄하여 목분을 제조하였다. 주목 심재의 에탄올 조추출물은 목분을 실온에서 95% 에탄올(ethanol, EtOH)에 72시간씩 침적시켜 3회 추출한 후 40°C에서 감압·농축하였다. 여기서 얻어진 주목 심재의 에탄올 조추출물은 석유에테르(petroleum ether), 디에틸에테르(diethyl ether, Et₂O) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc) 등의 용매로 순차 연속추출하여 분획하였다.

2.3. 기기분석

단리 화합물의 분자량은 JEOL JMS-600W를 사용하여 electron impact mass spectrometry (EI-MS)로 측정하였으며, 구조 분석을 위해 핵자기공명분광법(nuclear magnetic resonance: NMR)으로 ¹H-, ¹³C-NMR, ¹H-¹H COSY (Correlation Spectroscopy),

NOESY (NOE Spectroscopy), HMQC (¹H Detected Multiple Quantum Coherence), HMBC (¹H Detected Multiple Bond Connectivity)를 측정하였다. NMR 기기는 한국기초과학지원연구원 서울본소의 Bruker AMX-500을 사용하였으며 측정시 내부 표준 물질로 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다.

2.4. 항산화활성검정

단리된 물질들의 항산화활성은 DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 의한 프리라디칼 소거능을 이용하여 전보(이 등, 2000)에 따라 행하였다.

2.5. 각 성분의 분리

2.5.1. 화합물 I

에탄올 조추출물의 용매분획물 중 석유에테르 가용부로부터 무색의 무정형 결정물질이 침출되어 이물여과·정제하여 화합물 I (296 mg)를 얻었다.

화합물 I의 기기분석 data는 다음과 같다. EI-MS m/z : 504 (M^+), 444 (base ion), 402, 384, 342, 300, 282, 264, 249, 240, 221, 133, 119, 105. ¹H- and ¹³C-NMR (Table 1). ¹H-¹H COSY correlations : H-1↔H-14, H-2↔H-3, H-6↔H-7, H-9↔H-10, H-13↔H-14, Ha-14↔Hb-14, Me-16↔Me-17. NOESY correlations : H-5↔H-20, H-9↔Me-16/Me-17/Me-19, H-10↔Me-18, Me-16↔Me-17.

2.5.2. 화합물 II

조추출물의 Et₂O 가용부를 silica gel column 크로마토그래피[컬럼 : 7.5×17 cm, 용출용매 : CHCl₃-methanol(MeOH) = 1:0~0:1, v/v]에 의해 500 mL 씩 용출시켜 30개로 분취하였다. 각 분취물은 박층크로마토그래피[silica gel 60 F₂₅₄, 전개용매 : toluene-ethyl formate-formic acid = 5:4:1, v/v/v]에 의해 5개의 분획물(F-1~F-5)로 나누었다.

이 5개 분획 중 2번째인 F-2 분획물을 silica gel column 크로마토그래피[컬럼 : 4.5×60 cm, 용출용

매 : CHCl₃-MeOH = 50:1, v/v]에 의해 4개의 분획물(F-2-1~F-2-4)로 나누고, 이 중 F-2-3 분획물(3.03 g)을 다시 silica gel column 크로마토그래피[컬럼 : 7.0×32 cm, 용출용매 : dichloromethane-acetone = 7:1, v/v]하여 3개의 분획물(F-2-3-1~F-2-3-3)로 나누었다. 이 중 2번째 분획인 F-2-3-2(1.57 g)을 Sephadex LH-20 column 크로마토그래피[컬럼 : 6.5×30 cm, 용출용매 : MeOH]로 3개의 분획물(F-2-3-2-1~F-2-3-2-3)로 나누고, F-2-3-2-2 분획물(1.20 g)을 다시 silica gel column 크로마토그래피[컬럼 : 4.5×55 cm, 용출용매 : benzene-EtOAc-MeOH = 20:7:1, v/v/v]로 3개의 분획물(F-2-3-2-2-1~F-2-3-2-2-3)로 나누었다. 이 중 F-2-3-2-2-2의 분획물로부터 무색의 무정형 결정인 화합물 II (403 mg)를 단리하였다.

화합물 II의 기기분석 data는 다음과 같다. EI-MS m/z : 360 (M^+), 342, 311 (base ion), 284, 241, 206, 175, 137, 115. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 1.73 (1H, *m*, H-8'), 1.95 (1H, *m*, H-8), 2.73 (2H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-7), 3.36 (1H, *dd*, *J* = 4.3, 11.0 Hz, H-9'), 3.60~3.70 (3H, *m*, H-9, 9'), 3.73 (3H, *s*, OMe-3'), 3.75 (3H, *s*, OMe-5), 3.76 (1H, *m*, H-7'), 6.13 (1H, *s*, H-6), 6.57 (1H, *dd*, *J* = 1.8, 7.9 Hz, H-6'), 6.61 (1H, *s*, H-3), 6.63 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.69 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-5'). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 33.58 (*t*, C-7), 40.00 (*d*, C-8), 48.01 (*d*, C-7'), 48.06 (*d*, C-8'), 56.33 (*q*, OMe-3'), 56.38 (*q*, OMe-5), 62.22 (*t*, C-9'), 65.94 (*t*, C-9), 112.37 (*d*, C-3), 113.78 (*d*, C-2'), 115.97 (*d*, C-5'), 117.35 (*d*, C-6), 120.66 (*d*, C-6'), 129.00 (*s*, C-1), 134.16 (*s*, C-2), 138.62 (*s*, C-1'), 145.27 (*s*, C-4), 145.94 (*s*, C-4'), 147.21 (*s*, C-5), 149.02 (*s*, C-3'). HMBC correlations : H-3→C-1/C-5, H-6→C-2/C-4, H-7→C-2/C-3/C-6/C-8'/C-9, H-2'→C-4'/C-6'/C-7', H-5'→C-1'/C-3', H-6'→C-2'/C-4', H-7'→C-1/C-2'/C-6'/C-9', H-9'→C-8/C-8'. NOESY correlations : H-7↔H-3/H-8'/H-9, H-6↔H-2'/H-6'.

2.5.3. 화합물 III

Et₂O 분획물 중 F-3 (18.0 g)을 silica gel column 크로마토그래피(컬럼 : 7.0×35 cm, 용출용매 : benzene-EtOAc-MeOH = 20:7:1, v/v/v)를 이용하여 6개의 분획물 (F-3-1~F-3-6)로 나누었으며, 이 중 F-3-4 분획물(3.0 g)을 Sephadex LH-20 column 크로마토그래피(컬럼 : 6.5×30 cm, 용출용매 : MeOH, 80% MeOH)를 2회 실시하여 3개의 분획물(F-3-4-2-1~F-3-4-2-3)로 나눈 후, 이 중 F-3-4-2-2의 분획물(1.30 g)을 CPC [용출용매 : CHCl₃-MeOH-H₂O = 35:65:40, v/v/v]를 이용하여 3개의 분획물(F-3-4-2-2-1~F-3-4-2-2-3)로 나누었다. 다시 F-3-4-2-2-2 분획물(930 mg)을 silica gel column 크로마토그래피(컬럼 : 2.5×38 cm, 용출용매 : CHCl₃-MeOH = 10:1, v/v)에 의해 5 mL씩 용출시켜 50개로 분취하여 TLC상에서 UV검색한 결과 3개의 분획물 (F-3-4-2-2-2-1~F-3-4-2-2-2-3)을 얻었다. 이 중 분획물 F-3-4-2-2-2-2로부터 무정형 결정의 화합물 III (220 mg)을 단리하였다.

화합물 III의 기기분석 data는 다음과 같다. EI-MS *m/z* : 360 (M⁺), 342, 311, 236, 221, 194, 180, 151, 137 (base ion). ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 2.36 (1H, *m*, H-8), 2.48 (1H, *dd*, *J* = 11.3, 13.4 Hz, H-7'), 2.72 (1H, *m*, H-8'), 2.92 (1H, *dd*, *J* = 4.9, 13.4 Hz, H-7'), 3.62 (1H, *dd*, *J* = 6.4, 11.0 Hz, H-9), 3.71 (1H, *dd*, *J* = 6.4, 8.2 Hz, H-9'), 3.81 (3H, *s*, OMe), 3.82 (1H, *m*, H-9), 3.83 (3H, *s*, OMe), 3.97 (1H, *dd*, *J* = 6.4, 8.2 Hz, H-9'), 4.74 (1H, *d*, *J* = 6.7 Hz, H-7), 6.63 (1H, *dd*, *J* = 1.8, 7.9 Hz, H-6'), 6.71 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-5'), 6.76 (2H, *m*, H-5, 6), 6.79 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.90 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-2). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 33.65 (*t*, C-7'), 33.65 (*d*, C-8'), 54.05 (*d*, C-8), 56.38 (*q*, OMe×2), 60.46 (*t*, C-9), 73.52 (*t*, C-9'), 84.04 (*d*, C-7), 110.66 (*d*, C-2), 113.42 (*d*, C-2'), 115.98 (*d*, C-5), 116.19 (*d*, C-5'), 119.81 (*d*, C-6), 122.18 (*d*, C-6'), 133.53 (*s*, C-1'), 135.75 (*s*, C-1), 145.82 (*s*, C-4'), 147.05 (*s*, C-4), 148.99 (*s*, C-3, 3'). HMBC

correlations : H-2→C-21/C-3/C-4/C-6, H-5→C-1/C-3, H-5'→C-1'/C-3', H-6'→C-2'/C-4', H-6→C-2, H-7'→C-2'/C-8/C-9', H-7→C-2/C-6/C-9', H-8'→C-7/C-7'/C-8/C-9, H-8→C-7/C-9/C-9'/C-1, H-9'→C-7'/C-7/C-8, H-9→C-7/C-8/C-8'. NOESY correlations : H-7'↔H-2', H-9↔H-2'/H-2, H-7↔H-2/H-6.

2.5.4. 화합물 IV

위의 F-3-4 분획물(1.85 g)을 silica gel column 크로마토그래피(컬럼 : 3.0×33 cm, 용출용매 : CHCl₃-MeOH = 10:1, v/v)로 10 mL씩 55개로 분취하여 3개의 분획물(F-3-4-1~F-3-4-3)로 나누었으며, 이 중 F-3-4-3 분획물로부터 침상결정의 화합물 IV (16 mg)를 단리하였다.

화합물 IV의 기기분석 data는 다음과 같다. EI-MS *m/z* : 346 (M⁺, base ion), 328, 311, 297, 270, 241, 175, 123. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 2.03 (1H, *m*, H-8), 2.43 (1H, *dd*, *J* = 11.6, 13.4 Hz, H-7'), 2.67 (1H, *m*, H-8'), 2.88 (1H, *dd*, *J* = 4.9, 13.4 Hz, H-7'), 3.57 (1H, *m*, H-9), 3.65 (1H, *dd*, *J* = 6.1, 8.2 Hz, H-9'), 3.75~3.80 (1H, *m*, H-8'), 3.71 (1H, *dd*, *J* = 6.4, 8.2 Hz, H-9'), 3.81 (3H, *s*, OMe), 3.82 (1H, *m*, H-9), 3.78 (3H, *s*, OMe), 3.90 (1H, *dd*, *J* = 6.1, 8.2 Hz, H-9'), 4.63 (1H, *d*, *J* = 6.7 Hz, H-7), 6.59 (1H, *dd*, *J* = 2.4, 7.9 Hz, H-6), 6.60 (1H, *dd*, *J* = 2.4, 7.9 Hz, H-6'), 6.67 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-5'), 6.68 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-5), 6.73 (1H, *d*, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 6.74 (1H, *d*, *J* = 2.4 Hz, H-2). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 33.61 (*t*, C-7'), 43.83 (*d*, C-8'), 54.06 (*d*, C-8), 56.35 (*q*, OMe-3'), 60.41 (*t*, C-9), 73.44 (*t*, C-9'), 83.92 (*d*, C-7), 113.40 (*d*, C-2'), 114.16 (*d*, C-2), 116.12 (*d*, C-5'), 116.17 (*d*, C-5), 118.63 (*d*, C-6), 122.17 (*d*, C-6'), 133.55 (*s*, C-1'), 135.81 (*s*, C-1), 145.79 (*s*, C-4, 4'), 146.32 (*s*, C-3), 148.97 (*s*, C-3'). HMBC correlations : H-2→C-4/C-6/C-7, H-2'→C-4'/C-6'/C-7', H-5→C-1/C-3, H-5'→C-1'/C-4', H-6→C-2'/C-4, H-6'→C-1'/C-2'/C-4',

H-7→C-2/C-6/C-8'/C-9, H-7'→C-1'/C-2'/C-6'/C-8/C-9', H-8→C-7'/C-8'/C-9'/C-1, H-8'→C-7/C-8/C-9, H-9→C-7/C-8', H-9'→7/C-7'/C-8, OMe→C-3'. NOESY correlations : H-7'↔H-2', H-9↔H-6, H-7↔H-2'/H-6, OMe↔H-2'.

2.5.5. 화합물 V

조추출물의 EtOAc 가용부(3.0 g)를 silica gel column 크로마토그래피[컬럼 : 7.0×34 cm, 용출용매 : benzene-EtOAc-MeOH = 7:4:1, v/v/v]하여 3개의 분획물(EA-1~EA-3)로 나누었다. 이 중 EA-2 분획물(644 mg)을 CPC [용출용매 : CHCl₃-MeOH-H₂O = 35:65:40, v/v/v]를 이용하여 5 mL씩 70개로 분취한 후, UV검색에 의해 3개의 분획물(EA-2-1~EA-2-3)로 나누었다. 이 중 EA-2-2(498 mg) 분획물을 silica gel column [컬럼 : 2.5×40 cm, 용출용매 : CHCl₃-MeOH = 10:1, v/v]으로 5 mL씩 80개로 분취하여 3개의 분획물(EA-2-2-1~EA-2-2-3)로 나누었으며, 이 중 분획물 EA-2-2-2로부터 무색의 무정형 결정인 화합물 V (407 mg)를 단리하였다.

화합물 V의 기기분석 data는 다음과 같다. EI-MS *m/z* : 346 (M⁺, base ion), 328, 311, 297, 270, 241, 175, 123. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) : δ 1.59 (1H, *m*, H-8'), 1.93 (2H, *m*, H-8), 2.72 (2H, *dd*, *J* = 3.1, 9.2 Hz, H-7), 3.38 (1H, *dd*, *J* = 4.3, 11.6 Hz, H-9'), 3.55~3.70 (4H, *m*, H-7', 9', 9), 3.75 (3H, *s*, OMe-5), 6.16 (1H, *s*, H-6), 6.47 (1H, *dd*, *J* = 2.1, 7.9 Hz, H-6'), 6.49 (1H, *d*, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 6.60 (1H, *s*, H-3), 6.66 (1H, *d*, *J* = 7.9 Hz, H-5'). ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) : δ 33.53 (*t*, C-7), 40.06 (*d*, C-8), 47.78 (*d*, C-7'), 48.07 (*d*, C-8'), 56.40 (*q*, OMe-5), 62.39 (*t*, C-9'), 66.02 (*t*, C-9), 112.33 (*d*, C-3), 116.07 (*d*, C-5'), 117.25 (*d*, C-2'), 117.42 (*d*, C-6), 122.04 (*d*, C-6'), 134.28 (*s*, C-1'), 144.64 (*s*, C-4'), 145.20 (*s*, C-4), 146.27 (*s*, C-3'), 147.11 (*s*, C-5). HMBC correlations : H-2'→C-3'/C-4'/C-6', H-6→C-1/C-4/C-5, H-5'→C-1'/C-3', H-3→C-4/C-5, H-6'→C-2'/C-4', H-7

Table 1. ¹H- and ¹³C-NMR data of taxusin (I) in CDCl₃

Position	¹ H ^{a)}	<i>J</i> (Hz)	¹³ C ^{a)}	H coupled with C ^{b)}
1	1.83 <i>m</i>		40.31 <i>d</i>	H-16
2 (a)	1.67 <i>m</i>		28.28 <i>t</i>	H-3, H-14
(b)	1.74 <i>m</i>			
3	3.04 <i>d</i>	4.9	37.97 <i>d</i>	H-2, H-4, H-5, H-8, H-19, H-20
4			148.76 <i>s</i>	H-3, H-20
5	5.31 <i>t</i>	26,5.2	76.28 <i>d</i>	H-20
6 (a)	1.74 <i>m</i>		27.27 <i>t</i>	H-5
(b)	1.83 <i>m</i>			
7 (a)	1.74 <i>m</i>		27.31 <i>t</i>	H-5, H-19
(b)	1.83 <i>m</i>			
8			42.88 <i>s</i>	H-3, H-9
9	5.84 <i>d</i>	10.6	77.42 <i>d</i>	H-10
10	6.04 <i>d</i>	10.6	72.50 <i>d</i>	H-9
11			134.81 <i>s</i>	H-9, H-10, H-13, Me-16, Me-17, Me-18
12			136.97 <i>s</i>	H-10, Me-18
13	5.85 <i>m</i>		70.69 <i>d</i>	H-14
14 (a)	1.04 <i>dd</i>	7.5,14.2	31.87 <i>t</i>	H-1, H-2, H-3
(b)	2.66 <i>m</i>			
15			39.22 <i>s</i>	H-10
16	1.12 <i>s</i>		31.07 <i>q</i>	H-15
17	1.58 <i>s</i>		27.24 <i>q</i>	H-15, Me-16
18	2.11 <i>s</i>		14.80 <i>q</i>	H-13
19	0.76 <i>s</i>		17.69 <i>q</i>	H-3, H-7, H-9
20 (a)	4.90 <i>d</i>	15	114.03 <i>t</i>	H-5
(b)	5.21 <i>d</i>	15		
5-OAc	2.16 <i>s</i>		169.91 <i>s</i>	H-5
			21.75 <i>q</i>	
9-OAc	2.04 <i>s</i>		170.36 <i>s</i>	H-9
			20.80 <i>q</i>	
10-OAc	1.99 <i>s</i>		169.88 <i>s</i>	H-10
			21.00 <i>q</i>	
13-OAc	2.07 <i>s</i>		170.35 <i>s</i>	H-13
			21.38 <i>q</i>	

a) in ppm; b) in HMBC spectrum.

→C-6', H-7→C-1/C-2, OMe→C-5. NOESY correlations : H-8'↔H-2'/H-9', H-5'↔H-6'.

3. 결과 및 고찰

3.1. 단리물질의 화학구조

3.1.1. 화합물 I (Taxusin)

주목 심재부의 주요성분의 하나로 여겨지는 화합물 I은 석유에테르 가용부로부터 무색의 무정형 결정으로 침출되었다. 화합물 I의 EI-Mass 스펙트럼에서 분자이온 peak (M^+)가 m/z 504에서 나타났으며, 주요 이온 peak로서는 m/z 441, 402, 384, 342, 282, 264, 249, 133 등이었다. 이 중 m/z 441는 이 화합물의 base ion peak로 나타났다. 화합물 I의 1H -NMR 스펙트럼에서 δ 0.76 (3H, Me-19), δ 1.12 (3H, Me-16), δ 1.58 (3H, Me-17) 및 δ 2.11 (3H, Me-18)의 12H에 상당하는 4개의 singlet의 시그날은 taxane 기본 구조에 붙어있는 methyl proton에 유래하며, 또한 δ 1.99 (3H, s, $COCH_3$), δ 2.04 (3H, s, $COCH_3$), δ 2.07 (3H, s, $COCH_3$) 및 δ 2.16 (3H, s, $COCH_3$)의 4개의 singlet의 시그날은 알콜성 아세톡실기의 methyl기에 각각 귀속하였다. 그리고 δ 4.90 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-20) 및 δ 5.21 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-20)의 2개의 doublet는 전형적인 terminal methylene proton인 H-20에 기인한다. DEPT (45° , 90° , 135°)법에 의한 화합물 I의 ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 총 28개의 탄소 시그날이 나타났으며, 이 중 methyl기에 유래하는 시그날이 8개, methylene이 5개, tertiary이 6개, 그리고 quaternary 탄소가 9개로 확인되었으며, 이 중 δ 114.03의 시그날은 C-20의 methylene 탄소에 귀속하였다.

화합물 I의 HMBC 스펙트럼에서는 H_3 -16, H_3 -17 proton과 C-1, C-15, C-11 탄소와의 교차 peak, H_3 -18과 C-11, C-12, C-13, 그리고 H_3 -19와 C-3, C-7, C-8 사이 및 methylene proton에 기인하는 H-20과 C-3, C-5 탄소와의 교차 peak의 존재(Fig. 2)는 화합물 I이 6/8/6-ring system 구조의 화합물임을 시사하고 있다(Hideyuki *et al.*, 1997). 이상의 결과, 화합물 I은 cyclic diterpenoid 화합물인 taxusin으로 동정되었다(Fig. 1).

3.1.2. 화합물 II (Isolariciresinol)

무색의 무정형 결정으로 단리된 화합물 II는 EI-MS스펙트럼에서 분자이온 peak (M^+)가 m/z 360을 나타내었으며, 1H -NMR 스펙트럼의 δ 3.73 (3H, OMe-3), δ 3.77 (3H, OMe-5')의 6H에 해당하는 2개의 singlet는 C-3, C-5'의 탄소에 결합한 methoxyl기에 각각 기인하며, 저자장측에 나타나는 δ 6.13 (1H, s, H-6') 및 δ 6.61 (1H, s, H-3')의 2개의 시그날은 전형적인 1, 2, 4, 5-4치환 방향핵 proton에 유래하는 것으로 H-6', H-3'의 methine proton에 각각 귀속하였다. 또한 δ 1.73 (1H, m, H-8), δ 1.95 (1H, m, H-8'), δ 3.76 (1H, m, H-7)의 3개의 multiplet는 tetrahydronaphthalene 부분구조의 H-8, H-8' 및 H-7의 proton, δ 2.73 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-7')의 doublet 시그날은 H-7'의 methylene proton에 귀속하였다.

DEPT법에 의한 화합물 II의 ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 총 20개의 탄소 시그날이 나타났으며, 이 중 methylene에 유래하는 δ 33.58, δ 62.22, δ 65.94의 시그날은 C-7', C-9, C-9'위의 탄소에 각각 귀속하였다(San *et al.*, 1993). 또한 화합물 II의 HMBC 스펙트럼에서는 guaiacyl 골격의 H-2과 tetrahydronaphthalene 부분구조의 H-3'와 C-7 사이, 그리고 H-7과 C-1' 사이의 교차 peak를 확인할 수 있었다. 이상의 결과, 화합물 II는 4, 4', 9, 9'-tetrahydroxy-3, 5'-dimethoxy-2', 7-cyclolignan인 isolariciresinol로 동정하였다(Fig. 1). 이 화합물은 *Abies sachalinensis*에서도 분리되었다(Sasaya *et al.*, 1980).

3.1.3. 화합물 III (Lariciresinol)

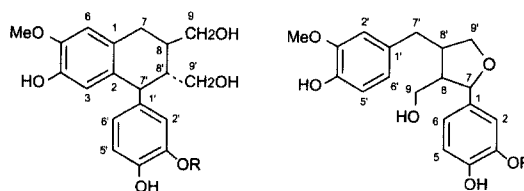
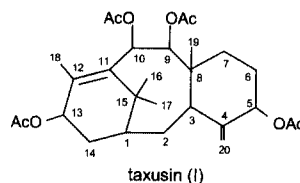
화합물 III은 무색의 무정형 결정으로 단리되었으며 EI-MS에서 (M^+)가 m/z 360을 나타내었다. 화합물 III의 1H -NMR 스펙트럼에서 δ 3.81 (3H, s, OMe), δ 3.83 (3H, s, OMe)의 6H에 상당하는 2개의 singlet는 methoxyl기 proton에 기인한다. 그리고 저자장측의 δ 6.68~6.90 사이에 나타나는 6개의 proton 시그날은 방향핵에 유래하며, 이 중 δ 6.63 (1H, dd, $J = 1.8, 7.9$ Hz, H-6)의 double doublet,

δ 6.75 (1H, $J = 7.9$ Hz, H-5) 및 δ 6.79 (1H, $J = 1.8$ Hz, H-2)의 2개의 doublet 시그널은 4-hydroxyl-3-methoxyphenyl기의 H-6, H-5 및 H-2 proton에 각각 귀속하였다(Pawan *et al.*, 1994). 또한 화합물 III의 NOESY스펙트럼에서는 H-2'와 H-7', H-9' proton 사이, 그리고 H-2 proton과 H-7 및 H-9'의 methylene proton과의 교차 peak의 존재는 이들이 서로 근접하고 있음을 나타내고 있다.

DEPT법에 의한 화합물 III의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 총 20개의 탄소 시그널 중 methyl group에 유래하는 시그널이 2개, methylene이 3개, methine 탄소가 9개, 그리고 방향핵에 기인하는 4급 탄소가 6개 존재함을 확인할 수 있었다. 또한 δ 40.06, δ 47.78, δ 48.07, δ 66.22의 4개의 탄소 시그널은 tetrahydrofuran 부분구조의 C-8, C-7', C-8' 및 C-9의 탄소에 각각 귀속하였다. 이상의 결과, 화합물 III은 4, 4', 9-trihydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 9'-epoxylignan, 즉 lariciresinol으로 동정하였다(Fig. 1). 이 화합물 및 에스테르 화합물은 *Abies sachalinensis* 에서도 분리되었다(Takehara *et al.*, 1980).

3.1.4. 화합물 IV (Taxiresinol)

무색의 침상결정으로 분리된 화합물 IV는 Mass에서 분자이온 peak (M^+)가 m/z 346을 나타내었다. 화합물 IV의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서의 δ 6.59 (1H, *dd*, $J = 2.4, 7.9$ Hz, H-6)의 1H의 시그널과 δ 6.68 (1H, $J = 7.9$ Hz, H-5) 및 δ 6.74 (1H, $J = 2.4$ Hz, H-2)의 2개의 doublet의 시그널은 3, 4-dihydroxyphenyl기의 proton에 기인한다. 화합물 IV의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서의 총 19개의 탄소 시그널 중 δ 114.06, δ 116.17, δ 118.63의 3개의 탄소 시그널은 방향핵의 catechol 부분구조의 C-2, C-5, C-6의 탄소에 각각 귀속하였다. 이상의 결과, 화합물 IV는 3, 4, 4', 9-tetrahydroxy-3'-methoxy-7, 9'-epoxylignan인 taxiresinol로 동정하였다(Fig. 1). 이 화합물은 Indian *Taxus baccata*의 심재에서 처음 발견되었다(Mujumdar *et al.*, 1972).



R=Me : isolariciresinol (II) R=Me : lariciresinol (III)
R=H : isotaxiresinol (V) R=H : taxiresinol (IV)

Fig. 1. Compounds isolated from heartwood of *Taxus cuspidata*.

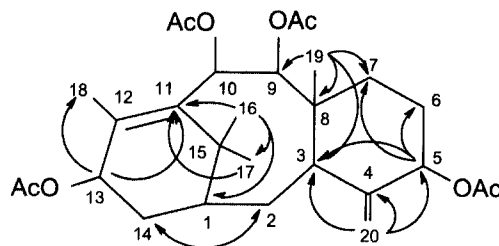


Fig. 2. HMBC correlations for taxusin (I).

3.1.5. 화합물 V (Isotaxiresinol)

화합물 V은 EI-Mass 스펙트럼에서 분자이온 peak (M^+)가 m/z 346을 나타내었으며, 주요이온 peak로서는 m/z 328, 297, 180, 137 등을 나타내었다. 화합물 V의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 3.75 (3H, *s*, OMe-5')의 하나의 singlet의 시그널은 C-5'에 치환된 methoxyl기에 유래한다. 저자장측의 δ 6.47 (1H, $J = 2.1, 7.9$ Hz, H-6)의 하나의 double doublet, δ 6.49 (1H, $J = 2.1$ Hz, H-2) 및 δ 6.66 (1H, $J = 7.9$ Hz, H-5)에서의 2개의 doublet의 시그널은 전형적인 1, 3, 4-3치환 방향핵의 시그널로 H-6, H-2 및 H-5위의 proton에 각각 귀속하였다. 또한 화합물 V의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 총 19개의 탄소 시그널이 나타났으며, 이 중 δ 56.40의 시그널은 C-5'위의 methoxyl기에 기인한다. 또한 δ 116.07, δ 117.25,

δ 122.04는 C-5, C-2, C-6이 methine 탄소에 각각 귀속하였다. 이상의 결과, 화합물 V는 3, 4, 4', 9', 9'-pentahydroxy-5'-methoxy-2', 7'-cyclo lignan인 isotaxiresinol로 동정하였다(Fig. 1).

3.2. 단리물질의 항산화활성

주목 심재로부터 단리한 taxusin, isolariciresinol, lariciresinol 및 isotaxiresinol의 항산화활성을 프리라디칼 소거능을 측정하여 검정하였다. 그 결과 이들 화합물 중 taxane 화합물인 taxusin을 제외한 3종의 lignan 화합물은 농도의 증가와 더불어 라디칼 소거능이 증가하는 경향을 보였다(Table 2). 대조구로 사용한 천연항산화제인 α -tocopherol과 합성항산화제인 butylated hydroxytoluene (BHT)도 같은 경향을 보였으나, taxusin은 농도가 증가해도 라디칼 소거능이 증가하지 않아 항산화활성이 매우 낮은 것으로 판단되었다. 즉, taxusin의 경우에는 100 μ g/mL의 농도에서 2.7%의 소거능을 나타낸 반면, isolariciresinol, lariciresinol 및 isotaxiresinol 모두 100 μ g/mL의 농도에서 90% 이상의 라디칼 소거능을 나타내었으며, 10 μ g/mL에서도 59% 이상의 소거능을 나타내어 각각 46.4%와 45.9%의 소거능을 나타낸 α -tocopherol 및 BHT보다도 높은 소거능을 보임으로써 활성이 우수한 것으로 판명되었다. 이상의 결과 주목의 심재 에탄올 추출물의 높은 항산화활성(이 등, 1999)은 이들 성분에 기인하는 것으로 사료되었다.

4. 결 론

주목 심재의 에탄올 추출물로부터 Sephadex LH-20, CPC (centrifugal partition chromatography), silica gel column chromatography 등을 이용하여 5종의 화합물을 단리하였다. 단리물질에 대해서는 NMR, Mass 등의 기기분석을 행하여 그 화학구조를 명확히 하였는데, 이는 taxane 화합물인 taxusin를 비롯하여 lignan인 4, 4', 9, 9'-tetrahydroxy-3', 5-dimethoxy-2, 7'-cyclo lignan (isolariciresinol), 4, 4', 9-trihydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 9'-epoxy-

Table 2. Antioxidative activities of isolated compounds from heartwood of *T. cuspidata* by DPPH free radical scavenging model

Compounds	Free radical scavenging activity (%)		
	100 μ g/mL	10 μ g/mL	1 μ g/mL
taxusin	2.7	1.5	1.0
isolariciresinol	91.5	59.2	29.4
lariciresinol	92.1	65.3	16.4
isotaxiresinol	93.0	59.3	6.8
α -tocopherol	92.3	46.4	0.4
butylated hydroxy-toluene (BHT)	92.5	45.9	7.5

lignan (lariciresinol), 3, 4, 4', 9-tetrahydroxy-3'-methoxy-7, 9'-epoxylignan (taxiresinol) 및 3', 4, 4', 9, 9'-pentahydroxy-5-methoxy-2, 7'-cyclo lignan (isotaxiresinol)으로 각각 동정되었다. 이들 주목 심재로부터 단리한 taxusin, isolariciresinol, lariciresinol 및 isotaxiresinol의 프리라디칼 소거능을 측정하여 항산화활성을 검정한 결과, taxusin을 제외한 3종의 lignan 화합물인 isolariciresinol, lariciresinol, isotaxiresinol 모두 천연 및 합성항산화제보다 높은 라디칼 소거능을 나타내어 항산화활성이 우수한 것으로 판명되었다. 이상의 결과 주목의 심재 에탄올 추출물의 높은 항산화활성은 이들 성분에 기인하는 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. 이성숙, 이학주, 강하영, 최돈하. 1999. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(I). -심재추출물의 항균 및 항산화활성-. 산림과학논문집 61: 82~89.
2. 이성숙, 최돈하, 이학주, 강하영. 2000. 수목추출물의 생리활성에 관한 연구(II). -느티나무 심재의 항균 및 항산화활성-. 목재공학 28(2): 32~41.
3. 이창복. 1993. 대한식물도감, 향문사.
4. Ayres, D. C. and J. D. Loike. 1990. Lignans. Cambridge University Press, New York, pp 402.
5. Das, B., M. Takhi, Srinivas K. V. N. S., and J. S. Yadav. 1993. Phenolics from needles of Hima-

- layan *Taxus baccata*. *Phytochemistry* 33(6): 1489~1491.
6. Giovanni, A., P. Lusso, P. Gariboldi, E. Bombardelli, and B. Gabetta. 1992. A 3, 11-cyclotaxane from *Taxus baccata*. *Phytochemistry* 31(12): 4259~4262.
 7. Hideyuki, S., X. Wang, N. Yoshida, and J. Kobayashi. 1997. Taxuspines X-Z, new taxoids from Japanese yew *Taxus cuspidata*. *Chem. Pharm. Bull.* 45(7): 1205~1208.
 8. Luciano, B., P. Gariboldi, E. Torregiani, G. Appendino, B. Gabetta, G. Zini, and E. Bombardelli. 1993. Taxanes from the needles of *Taxus wallichiana*. *Phytochemistry* 33(1): 145~150.
 9. Mujumdar, R. B., R. Srinivasan, and K. Venkataraman. 1972. Taxiresinol, a new lignan in the heartwood of *Taxus baccata*. *Indian J. of Chem.* 10: 677~680.
 10. San, F. A., J. M. Miguel Del Corral, M. Gordali Za, and M. A. Castro. 1993. ¹³C NMR data for several cyclolignans. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 31: 868~880.
 11. Pawan, K. A. and A. K. Pathak. 1994. Influence of skeletal alteration of lignoids on carbon-13 NMR chemical shifts. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 32: 753~773.
 12. Sasaya, T., T. Takehara, and T. Kobayashi. 1980. Extractives of todomatsu *Abies sachalinensis* master II. *Mokuzai Gakkaishi* 26(11): 759~764.
 13. Takehara, T., T. Kobayashi, and T. Sasaya. 1980. Extractives of todomatsu *Abies sachalinensis* master I. *Mokuzai Gakkaishi* 26(4): 274~279.
 14. Virinder, S. P., A. Jha, K. S. Bisht, P. Taneja, S. K. Singh, A. Kuma, Poonam, R. Jain, and C. E. Olsem. 1999. Constituents of yew trees. *Phytochemistry* 50: 1267~1304.
 15. Walker, K. and R. Croteau. 2000a. Molecular cloning of a 10-deacetylbaaccatin III-10-O-acetyl transferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(18): 583~587.
 16. Walker, K. and R. Croteau. 2000b. Taxol biosynthesis: Molecular cloning of a benzoyl-CoA:taxane 2 α -O-benzoyltransferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(25): 13591~13596.