

노간주나무(*Juniperus rigida* Siebold et Zucearini) 잎의 추출성분 및 항산화 활성*¹

이 상극*² · 김진규*² · 함연호*³ · 배영수*^{2†}

Extractives from the needles of *Juniperus rigida* Siebold et Zucearin and Antioxidant activity*¹

Sang-Keug Lee*² · Jin-Kyu Kim*² · Yeon-Ho Ham*³ · Young-Soo Bae*^{2†}

요 약

노간주나무 잎을 채취하여 건조시킨 후 분말로 제조하여 1.5 kg을 아세톤-물(7:3, v/v)로 추출하고 hexan, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성으로 분획하여 동결 건조시켰다. 그 중에서 에틸아세테이트용성과 수용성 분획을 Sephadex LH-20으로 충전한 칼럼에서 메탄올과 에탄올-hexan 혼합액을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 분리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 NMR스펙트럼을 사용하여 정확한 구조를 규명하였고 FAB 및 EI-MS로써 분자량을 측정하였다. 주로 많은 양의 (+)-catechin, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside와 isoconiferin이 분리되었으며, 소량의 umbelliferone과 quercetin-3-O- β -D-rutinoside도 분리되었다. 각 분획물들과 분리된 화합물들은 DPPH 라디칼 소거법을 이용하여 항산화실험을 실시하였으며, 분획물중에는 에틸아세테이트용성이 그리고 화합물중에는 (+)-catechin과 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside이 우수한 항산화효능이 있는 것으로 나타났다.

ABSTRACT

The dried needles(15 kg) of *Juniperus rigida* were ground, extracted with acetone-H₂O(7:3, v/v), concentrated, and fractionated with a series of hexane, CH₂Cl₂, EtOAc and water on a separatory funnel. Each fraction was freeze dried to give dark-brown powder and EtOAc and water soluble fractions were chromatographed on a Sephadex LH-20 column using a series of aqueous methanol and ethanol-hexane mixture as eluent. Spectrometric analysis such as NMR and FAB or EI-MS including TLC were performed

*¹ 접수 2003년 3월 13일, 채택 2003년 7월 3일

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

*³ 강원도 산림개발연구원 Forest Research Institute of Kangwon Province, Chunchon 200-140, Korea

† 주저자(corresponding author) : 배영수(e-mail: bae@kangwon.ac.kr)

to characterize the structures of the isolated compounds. The needles of *Juniperus rigida* contained a large amount of (+)-catechin, quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside and isoconiferin, in addition to a small amount of umbelliferone and quercetin-3-O- β -D-rutinoside. The antioxidative activities of each fraction and isolated compounds were tested by DPPH radical scavenging method, and EtOAc soluble fraction, (+)-catechin and quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside were effective.

Keywords: *Juniperus rigida* Siebold et Zucearini, isoconiferin, umbelliferone, quercetin-3-O- β -D-rutinoside, DPPH, antioxidative activity

1. 서 론

노간주나무(*Juniperus rigida* Siebold et Zucearini)는 중국, 일본, 우리 나라 전역에 자생하는 상록교목으로서 원대가 옆으로 뻗으며 그 중간에서 뿌리가 나오는 갯노간주(*J. conferta*), 높이 15 m의 소교목이지만 대개 줄기가 여러 갈래로 나오는 높이 3-5 m의 관목상으로 자라며 수피는 회갈색인 두송(*J. communis*), 기본종에 비해 잎의 길이가 4-8 mm로 짧고 열매가 6-7 mm로 잎보다 긴 곱향나무(*J. communis* var. *montana*) 그리고 바닷가에서 자라는 해변노간주(var. *koreana* T. Lee) 등이 있다(김, 1996). 노간주나무는 건조한 곳에서 잘 자랄 수 있을 뿐만 아니라 종자가 새들에 의하여 잘 전파될 수 있는 특성이 있고, 어릴 때에는 맹아력(萌芽力)이 강하며 또 잎이 뾰족하여 동물의 침해가 어려워 능히 살아남을 수 있다고 한다(이, 1990). 예로부터 노간주나무는 주로 관상용이나 향료로 많이 사용되어 왔다.

최근 천연물에 대한 관심이 높아지면서 연구가 활발히 진행되고 있으며 천연물로부터 기능성물질을 탐색하기 위하여 많은 노력을 기울이고 있고, 또한 수목의 목재, 잎 등의 추출성분 중 생리활성이 뛰어난 성분들을 이용한 기능성 물질로서의 활용방안도 활발히 연구되고 있는 실정이다. 본 연구는 침엽수 잎의 추출성분들을 효율적으로 이용하기 위한 연구의 하나로 아직 연구가 미흡한 노간주나무 잎의 추출성분들을 분리하고 화학구조를 결정하여 생리활성 및 약리적 응용을 위한 자료를 얻기 위하여 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

2001년 5월 강원도 양구군 양구읍 상동일대의 산지에서 자라고 있는 노간주나무 잎을 채취하여 실험실에서 약 2주간 건조한 후 분쇄기를 사용하여 추출용 분말로 조제하였다.

2.2. 추출물의 조제 및 분리

기건된 노간주나무 잎 분말 1.5 kg을 10 l의 유리 용기에 넣고 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용액에 침적하여 실험실에서 약 3일간 추출하였으며, 충분한 양을 얻기 위하여 이와 같은 조작을 4회 반복 실시하여 농축하였다.

농축된 추출물은 분획 깔때기상에서 헥산, 메틸렌 클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성 분획으로 분리하고 농축한 후 동결건조하여 헥산용성 49.7 g, 메틸렌 클로라이드용성 2.6 g, 에틸아세테이트용성 25.6 g, 수용성 분획물 121.2 g을 얻을 수 있었다.

2.3. 추출물의 분리 및 단리

노간주나무 잎으로부터 얻어진 분말상의 에틸아세테이트용성 및 수용성 분획으로부터 단일 화합물을 단리, 정제하기 위하여 반복적인 칼럼크로마토그래피를 실시하였으며 충전물질로는 Sephadex LH-20을 사용하였고 용리용매는 EtOH-hexane 혼합액과 MeOH

수용액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector(Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았으며 분리된 물질의 확인은 셀룰로오스 박층크로마토그래피(TLC)를 이용하여 확인하였다. 전개용매로 6% AcOH(solvent A)과 *t*-BuOH-AcOH-H₂O(3:1:1, solvent B)을 사용하였으며 TLC상에 전개된 화합물은 UV램프(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.

에틸아세테이트용성 분획물 20.62 g을 유리칼럼(4 cm×60 cm)에 주입하고 MeOH-H₂O(4:1, v/v)를 용리용매로 하여 1차 분리를 실시하여 4개의 부분으로 분리하였으며 RLE로 표기하였다. 동결 건조된 양은 RLE-1 8.83 g, RLE-2 0.97 g, RLE-3 5.30 g, RLE-4 2.01 g이었으며, 먼저 RLE-1을 MeOH-H₂O(1:1, 1:3, v/v)과 EtOH-hexane(4:1, v/v)으로 연속적인 컬럼크로마토그래피를 실시하여 화합물 3(isoconiferin 264mg)을, RLE-2를 MeOH-H₂O(1:1, 1:3, v/v)과 EtOH-hexane(4:1, v/v)을 사용하여 화합물 4(umbelliferone 17 mg)를, 그리고 RLE-3을 MeOH-H₂O(1:1, 1:3, 1:4, v/v)과 EtOH-hexane(4:1, v/v)를 사용하여 화합물 2(querctin-3-O- α -L-rhamnopyranoside 1.13 g)와 화합물 1((+)-catechin 1.97g)을 얻을 수 있었다.

노간주나무 잎의 수용성 분획 16.52 g을 유리칼럼에 주입하고 MeOH-H₂O(1:1, v/v)를 사용하여 3개의 부분으로 분리하였으며 RLH로 표기하였다. 동결 건조된 양은 RLH-1 13.90 g, RLH-2 0.82 g, RLH-3 1.08 g이었으며 RLH-2를 MeOH-H₂O(1:3, v/v)과 EtOH-hexane(4:1, v/v)로 재크로마토그래피를 실시하여 화합물 3(isoconiferin 226 mg)을, RLH-3을 MeOH-H₂O(1:3, 1:5, v/v)을 사용하여 화합물 5(querctin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1"→6''')- β -D-glucopyranoside 26mg)를 결정으로 단리하였다.

2.4. 단리화합물의 구조분석

단리된 화합물들의 구조결정은 강원대학교 공동실험실습관의 400MHz NMR spectrometer(Bruker ADVANCE DPX)를 사용하여 ¹H, ¹³C-NMR 스펙트럼과 HETCOR 스펙트럼을 분석하였다. 단리물질의 정확한 분자량 측정은 강원대학교 공동실험실습관의 VG70-VSEQ Mass spectrometer를 이용하여 FAB 및 EI-MS분석을 실시하였다.

Querctin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (2)

R_f : 0.63(solvent A), 0.25(solvent B)

FAB-MS : m/z[M+H]⁺ 449

¹H-NMR(400 MHz, δ , acetone-*d*₆) : 0.93(3H, *m*, H-CH₃(rha)), 3.29~4.22(4H, *m*, H-2'', 3'', 4'', 5''), 5.34(1H, *s*, H-1''), 6.19(1H, *d*, *J*=1.96Hz, H-6), 6.36(1H, *d*, *J*=1.97Hz, H-8), 6.90(1H, *d*, *J*=8.30Hz, H-5'), 7.30(1H, *dd*, *J*=2.00Hz, 8.29Hz, H-6'), 7.33(1H, *d*, *J*=1.99Hz, H-2').

¹³C-NMR(100.6 MHz, δ , acetone-*d*₆) : 15.01(C-Me), 69.23(C-5''), 69.38(C-3''), 69.49(C-2''), 70.53(C-4''), 92.04(C-8), 97.16(C-6), 100.86(C-1''), 103.16(C-10), 113.68(C-5'), 114.19(C-2'), 120.19(C-6'), 120.43(C-1'), 133.53(C-3), 143.76(C-3'), 147.16(C-4'), 155.85(C-9), 156.62(C-2), 160.55(C-5), 163.35(C-7), 176.95(C-4).

Querctin-3-O- β -D-rutinoside (3)

R_f : 0.52(solvent A), 0.31(solvent B)

FAB-MS : m/z[M+H]⁺ 611

¹H-NMR(400 MHz, δ , MeOH-*d*₄) : 1.12(3H, *d*, *J*=6.11Hz, H-6'''(rha)), 3.26~3.82(10H, *br m*, H-sugar protons), 4.52(1H, *br s*, H-1'''(rha)), 5.10(1H, *d*, *J*=7.45Hz, H-1''(glc)), 6.19(1H, *br s*, H-8), 6.38(1H, *br s*, H-8), 6.87(1H, *d*, *J*=8.39Hz, H-5'), 7.62(1H, *dd*, *J*=1.60Hz and *J*=9.99Hz, H-6'), 7.66(1H, *br s*, H-2').

¹³C-NMR(100.6 MHz, δ , MeOH-*d*₄) : 17.92(C-6'''), 68.58(C-6''), 69.73(C-5'''), 71.40(C-4''),

72.11(C-3''), 72.26(C-2''), 73.96(C-4''), 75.75(C-2''), 77.21(C-5''), 78.19(C-3''), 94.90(C-8), 99.98(C-6), 102.44(C-1''), 104.78(C-1''), 105.63(C-10), 116.08(C-2'), 117.73(C-5'), 123.13(C-1'), 123.60(C-6'), 135.66(C-3), 145.84(C-3'), 149.82(C-4'), 158.50(C-9), 159.34(C-2), 162.96(C-5), 166.04(C-7), 179.40(C-4).

Umbelliferone (4)

R_f : 0.81(solvent A), 0(solvent B)

EI-MS : [M]⁺ m/z 162

¹H-NMR(400 MHz, δ , DMSO-*d*₆) : 6.19(1H, *d*, *J*=9.47Hz, H-3), 6.71(1H, *d*, *J*=1.90Hz, H-8), 6.78(1H, *dd*, *J*=2.05Hz and *J*=8.43Hz, H-6), 7.51(1H, *d*, *J*=8.49 Hz, H-5), 7.93(1H, *d*, *J*=9.45Hz, H-4).

¹³C-NMR(100.6 MHz, δ , DMSO-*d*₆) : 103.04 (C-8), 112.00(C-10), 112.09(C-3), 114.08(C-6), 130.54(C-5), 145.42(C-4), 156.39(C-9), 161.34(C-7), 162.45(C-2).

Isoconiferin (5)

R_f : 0.62(solvent A), 0.62(solvent B)

EI-MS : [M]⁺ m/z 342

¹H-NMR(400 MHz, δ , MeOH-*d*₄) : 3.22~3.83 (6H, *m*, H-2', 3', 4', 5', 6a', 6b'), 3.87(3H, *br s*, H-OMe), 4.30(1H, *dd*, *J*=6.86Hz and *J*=12.47Hz, H-9a), 4.38(1H, *d*, *J*=7.77Hz, H-1'), 4.51(1H, *dd*, *J*=5.81Hz and *J*=12.59Hz, H-9b), 6.21(1H, *dt*, *J*=6.39Hz and *J*=15.79Hz, H-8), 6.59(1H, *d*, *J*=15.83Hz, H-7), 6.75(1H, *d*, *J*=8.17Hz, H-5), 6.87(1H, *dd*, *J*=1.65Hz and *J*=8.11 Hz, H-6), 7.03(1H, *d*, *J*=1.35Hz, H-2).

¹³C-NMR(100.6 MHz, δ , MeOH-*d*₄) : 56.39 (C-OMe), 62.85(C-6'), 71.05(C-9), 71.73(C-4'), 75.18(C-2'), 78.02(C-5'), 78.16(C-3'), 103.18(C-1'), 110.60(C-2), 116.22(C-5), 121.20(C-6), 123.75(C-8), 130.40(C-1), 134.33(C-7), 147.73(C-4), 149.11(C-3).

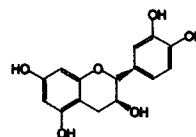
2.5. DPPH radical 소거법을 이용한 항산화 실험

각 분획물과 단리화합물들을 적당한 농도로 희석한

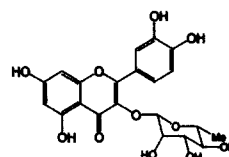
메탄올 용액 4 ml와 0.15 mM의 DPPH 1 ml를 섞은 후 상온에서 30분간 반응시킨 뒤 517 nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. 항산화 효과는 시료 무첨가 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC₅₀)로 나타내었다. 항산화력은 합성항산화제인 BHT와 천연항산화제인 α -tocopherol과 비교하면서 각 화합물 및 분획물의 IC₅₀을 구하여 항산화력이 우수한 물질을 탐색하고자 하였다.

3. 결과 및 고찰

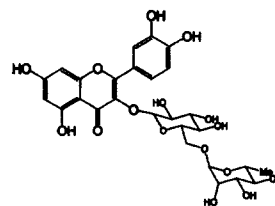
노간주나무 잎의 에틸아세테이트용성과 수용성 분획으로부터 flavonoid 및 당이 결합된 배당체 화합물인 (+)-catechin(1), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (2), quercetin-3-O- β -D-rutinoside(3)를 단리하였으며, coumarin 화합물인 umbelliferone(4)과 cinnamic acid 배당체인 isoconiferin(5)을 단리하였다.



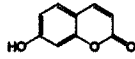
(+)-Catechin (1)



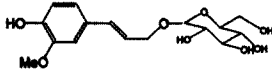
Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (2)



Quercetin-3-O- β -D-rutinoside (3)



Umbelliferone (4)



Isoconiferin (5)

Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (2)

화합물 3은 전형적인 flavonol유도체로서 aglycon 이 quercetin으로 C-3의 위치에 rhamnose가 결합된 형태의 배당체 화합물이다. TLC상에서 화학적 이동 값 R_f 는 0.63(solvent A), 0.25(solvent B)로 나타났다.

$^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 7.33(*d*, $J=1.99\text{Hz}$), 7.30(*dd*, $J=2.00, 8.29\text{Hz}$) 및 6.88(*d*, $J=8.30\text{Hz}$)ppm의 피크들은 전형적인 flavonol의 catechol B환의 형태임을 보여주며, 6.36과 6.19 ppm의 meta coupling된 피크들은 flavonol의 phloroglucinol A환형의 H-8과 H-6임을 명확히 나타낸다(함, 2000; Oleszek *et al.*, 2002). 3번 위치에 결합하고 있는 rhamnose의 H-1"은 5.34ppm으로 downfield되어 doublet peak로 나타나고 있으며 J 값이 1.18Hz로서 α -L 형태임을 알 수 있다. rhamnose의 나머지 peak들은 3.29~4.22 ppm에서 나타나고 있으며 rhamnose의 methyl기는 0.93 ppm에서 전형적인 peak를 보여주고 있다(Agrawal, 1992; Oleszek *et al.*, 2002).

또한 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 176.95 ppm은 flavonol의 carbonyl을 보여주며, A환의 C-7과 C-5는 각각 163.45 ppm과 160.55 ppm에서 나타나고 C-6과 C-8은 97.16 ppm과 92.04 ppm에서 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 156.62 ppm과 133.53 ppm에서 피크를 나타내고 있으며, 이것은 함(2000)이 보고한 quercetin보다 각각 8 ppm과 4 ppm 정도 downfield된 것으로 보아 rhamnose가 C-3 위치에 결합되어 있음을 나타내는 증거이다. B환에서 수산기가 결합되어 있는 C-3'와 C-4'는 143.76과 147.16 ppm에서, 수산기가 결합되지 않은 C-2', 5', 6'는 각각 114.19 ppm, 113.68 ppm, 120.19 ppm

에서 peak를 보여주고 있으며 catechol B환의 형태를 나타내고 있다(함, 2000). C-3에 결합되어 있는 rhamnose의 C-1"은 100.86 ppm에서 downfield되어 나타나고 나머지 탄소들은 70 ppm 부근에서 특징적인 피크를 나타내며 rhamnose의 methyl기 탄소는 15.01 ppm에서 전형적인 피크를 보여주고 있다(Agrawal, 1992; Harborne, 1994; Oleszek *et al.*, 2002). FAB-MS 스펙트럼은 분자량 M+H가 449로 이 화합물의 분자량 448과 정확히 일치하고 있다.

Quercetin-3-O- β -D-rutinoside (3)

화합물 3은 노란색의 분말로서 수용성 분획에서 결정 형태로 단리되었으며 TLC상에서 R_f 값은 0.52(solvent A), 0.31(solvent B)이었고, UV램프 하에서는 갈색으로 관찰되었다. 이 화합물은 glucose에 rhamnose가 결합을 한 rutinose가 aglycon인 quercetin의 C-3 위치에 결합된 화합물로 rutin이라고도 한다.

$^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 5.10 ppm의 피크는 C-3에 결합되어 있는 glucose의 H-1"에 해당되는 것으로 downfield로 이동하여 doublet으로 나타나고 있는데, J 값이 7.45Hz로 β -D-glucose임을 알 수 있고 4.52 ppm의 피크는 rhamnose의 H-1"을 나타내며 α -L-rhamnose의 형태임을 알 수 있다. 나머지 glucose와 rhamnose의 수소들이 3.26~3.82 ppm에서 매우 복잡한 multiplet으로 나타나고 있다. rhamnose의 methyl기는 1.12 ppm에서 전형적인 피크를 주고 있다(Ham 등, 1997). 한편, aglycon인 quercetin의 수소들의 피크는 화합물 2 및 함(2000)과 Slowing 등(1994)이 보고한 것과 동일하게 나타나고 있다.

$^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 102.44 ppm의 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 75.75 ppm, 78.19 ppm, 71.40 ppm, 77.21 ppm, 68.58 ppm에서 나타나고 있다. 또한, 99.25 ppm의 피크는 glucose의 C-6"에 결합하고 있는 rhamnose의 C-1"의 피크이며 나머지 C-2", 3", 4", 5"의 피크들은 71.71 ppm, 70.80 ppm, 73.02 ppm, 68.91 ppm에서 나타나고 있고, methyl기 탄소가 16.53 ppm에서 전형적인 피크를 보이고 있다. 이상은 (1989)과 Ham 등(1997)이 보고한 rutin

과 일치하고 있다. 한편, FAB-MS 스펙트럼에서 분자량 분석치가 $[M+H]^+$ m/z 610으로서 이 화합물의 분자량 609와 일치하고 있다.

***Umbelliferone* (4)**

화합물 4는 흰색의 결정성 분말로서 에틸아세테이트 용성 분획에서 재결정법으로 단리할 수 있었으며 TLC상에서의 R_f 값은 0.81(solvent A)과 0(solvent B)이었고, UV램프 하에서는 갈색으로 관찰되었다.

이 화합물은 coumarin을 기본골격으로 하는 화합물로서 C-7에 수산기가 결합되어 있는 구조이다. 1H -NMR 스펙트럼에서 6.19 ppm과 7.93 ppm의 피크는 각각 H-3과 H-4로써 doublet으로 나타나고 있으며, J 값이 각각 9.47Hz와 9.45Hz로서 고리를 이루는 cis형태의 구조임을 알 수 있다(이, 1999). 일반적으로 trans형의 이중결합을 이루고 있는 수소들의 J 값은 17Hz 정도로 나타나며 cis 또는 이중결합을 포함한 육각형의 환을 형성할 때의 수소들의 J 값은 10Hz 정도로 나타난다고 Silverstein 등(1991)이 저술한 바 있다.

^{13}C -NMR 스펙트럼에서 C-3은 112.09 ppm에서, C-4는 145.42 ppm에서 나타나고 있으며 C-2의 carbonyl기와 conjugation 되었기 때문에 C-4가 downfield로 C-3은 upfield로 이동되었다. C-2는 162.45 ppm에서 나타나고 있으며 carboxyl이 아닌 ester의 형태로 결합되어 있음을 알 수 있다(Matsuda 등, 1994; 함, 2000).

Phenol환의 구조는 H-5는 H-6과 ortho coupling으로 7.51 ppm에서 doublet($J=8.49$ Hz)으로, H-6은 H-5와 H-8과의 coupling으로 6.78 ppm에서 doublet($J=8.43, 2.05$ Hz)으로, H-8은 H-6과 meta coupling으로 6.71 ppm에서 doublet($J=1.90$ Hz)으로 각각 나타나고 있다. 수산기가 결합된 C-7은 161.34 ppm에서, C-9는 156.39 ppm에서, C-10은 112.00 ppm에서 나타나고 있다.

EI-MS 분석에서 $[M]^+$ 의 m/z 는 162로 나타났으며 umbelliferone의 분자량인 162와 동일하게 나타났다.

***Isoconiferin* (5)**

화합물 3은 노란색의 화합물로 에틸아세테이트 및 수용성 분획에서 단리되었으며 TLC상에서 R_f 값은

0.62(solvent A)와 0.62(solvent B)였고 UV램프 하에서는 갈색으로 관찰이 되었으며 발색제에는 적색으로 반응을 하였다.

이 화합물은 페놀환의 C-3과 C-4에 각각 methoxyl기와 수산기가 결합을 하고 있으며 C-1에 결합하고 있는 C_3 측쇄의 C-9에 glucose가 결합을 하고 있는 형태의 화합물로서, C-4에 glucose가 결합하고 있고 C_3 측쇄의 C-9에 수산기가 결합을 하고 있는 phenylpropanoid 계열의 화합물인 coniferin의 isomer이다.

1H -NMR 스펙트럼에서 보는 바와 같이 페놀환은 C-3과 C-4에 methoxy기와 수산기가 결합을 하고 있기 때문에 catechol 형태임을 알 수 있다. 따라서 H-2는 H-6과 meta coupling으로 7.03 ppm에서 doublet($J=1.35$ Hz)으로 나타나며, H-6은 H-2와 H-5의 coupling으로 인해 6.87 ppm에서 double doublet($J=1.65, 8.11$ Hz)으로 나타나며 H-5는 6.75 ppm에서 J 값이 8.17Hz인 doublet으로 나타난다. Greca 등(1998)은 *Z. aethiopica*에서 coniferin과 isoconiferin을 단리하여 보고하였는데, coniferin에서의 H-5는 isoconiferin보다 약 0.4 ppm downfield된 7.11 ppm에서 피크를 주고 있으며 수산기가 아닌 glucose가 결합을 하고 있기 때문이다. ^{13}C -NMR 스펙트럼에서 methoxyl기와 수산기가 결합하고 있는 C-3과 C-4는 149.11 ppm과 147.73 ppm에서 특징적인 피크를 나타내며 나머지 C-2, 5, 6의 피크는 각각 110.60 ppm, 116.22 ppm, 121.20 ppm에서 catechol 형태와 유사하게 보이고 있다. 한편, C-1은 Greca 등(1998)이 보고한 coniferin보다 3 ppm 정도 upfield된 130.40 ppm에서 나타나고 있다. C-9에 결합을 하고 있는 glucose의 H-1'은 4.38 ppm에서 doublet으로 보이고 있으며 이것은 glucose가 aromatic환에 결합되어 있지 않음을 나타내며 J 값이 7.77Hz로 β -D-glucopyranose임을 알 수 있다. methoxy의 탄소는 56.39ppm에서 나타나며 이것도 벤젠환에 결합되어 있음을 나타낸다.

C-1에 결합하고 있는 C_3 측쇄구조는 1H -NMR 스펙트럼에서 보는 바와 같이 H-7은 인접한 H-8의 영향으로 6.59 ppm에서 doublet으로 나타나며 H-8은 인접한 H-9의 두 개의 수소와 H-7의 수소에 의해 6.21 ppm에서 double triplet의 피크를 나타내고 있다. 이 두 수소의 J 값이 각각 15.83Hz와 15.79Hz인 것으로

Table 1. Antioxidation activities of the extractives of needles of *Juniperus rigida*

Control	Compound	IC ₅₀ (μ g)
	BHT	12 μ g
	α -tocopherol	14 μ g
Extractives of the needles of <i>Juniperus rigida</i> Siebold et Zuccarini	Hexane soluble fraction	48 μ g
	CH ₂ Cl ₂ soluble fraction	42 μ g
	EtOAc soluble fraction	10 μ g
	H ₂ O soluble fraction	47 μ g
	(+)-Catechin	11 μ g
	Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside	14 μ g
	Isoconiferin	42 μ g
	Umbelliferone	-
	Quercetin-3-O- β -D-rutinoside	-

보아 서로 trans 구조임을 알 수 있다. Dubeler 등 (1997)은 *Fagus sylvatica*의 수피에서 cis-isoconiferin을 분리하였는데, H-7과 H-8의 *J*값이 12Hz여서 cis 구조의 화합물임을 규명한 바 있다. 한편, glucose가 결합을 하고 있는 C-9의 두 개의 수소는 vicinal 수소인 H-8과 geminal 수소인 H-9와의 영향으로 각각 4.30 ppm과 4.51 ppm에서 double doublet의 피크를 나타내고 있다. ¹³C-NMR 스펙트럼에서 134.33 ppm은 피크는 C-7을 나타내는 것이고 C-9는 71.05 ppm에서 나타나고 있는데, 이것은 Dubeler 등(1997)이 보고한 coniferin보다 7 ppm 정도 downfield되어 나타나고 있다. 또한 인접한 C-8은 123.75 ppm으로 coniferin보다 약 8 ppm 정도 upfield 되어 나타나는 차이를 보이고 있다. 그리고, glucose의 C-1'는 103.18 ppm에서 downfield 되어 나타나고 있고, 75.18 ppm, 78.16 ppm, 71.73 ppm, 78.02 ppm, 62.85 ppm이 피크들은 나머지 glucose의 C-2, 3, 4, 5, 6에 해당되는 전형적인 형태임을 보이고 있다.

이상의 결과는 Greca 등(1998)이 보고한 isoconiferin과 정확히 일치하고 있으며, EI-MS 스펙트럼은 분자량이 [M]⁺가 m/z 342로서 이 화합물의 분자량 342와 정확하게 일치함을 알 수 있었다.

분획 및 단리화합물의 항산화능

노간주나무 잎의 각 분획물과 분리된 화합물들을 가지고 DPPH radical 소거법을 이용하여 기초적인

항산화 실험을 실시하였다. 기준물질로는 합성 항산화제인 BHT와 천연 항산화제인 α -tocopherol을 사용하여 항산화능을 비교하였다.

분획물들 중에서는 에틸아세테이트용성 분획, 분리된 화합물들 중에서는 (+)-catechin과 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside가 기준물질과 거의 같은 매우 우수한 항산화 효능을 나타내었고 나머지는 활성이 없는 것으로 나타났다. 이것은 (+)-catechin과 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside가 포함되어 있는 에틸아세테이트용성 분획이 우수한 활성을 나타내는 것에 관련이 있음을 알 수 있었다.

4. 결론

노간주나무 잎의 에틸아세테이트용성과 수용성 분획을 sephadex LH-20으로 충전한 칼럼크로마토그래피를 실시하여 다섯 개의 화합물을 단리할 수 있었다. 에틸아세테이트용성 분획에서는 flavan 화합물인 (+)-catechin(1.97g)과 flavonol 배당체인 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside(1.08 g), phenylpropanoid 화합물인 isoconiferin(264 mg), coumarin 화합물인 umbelliferone(17.8 mg)을 단리하였고, 수용성 분획에서는 flavonol 배당체인 quercetin-3-O- β -D-rutinoside (26 mg)와 phenylpropanoid 화합물인 isoconiferin (226 mg) 등 비교적 다양한 종류의 화합물이 단리되었

다. 특히, (+)-catechin과 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside는 대부분 결정형태로 많은 양이 단리되었으며, 노간주나무잎 추출물의 주성분으로 생각되며, 침엽수종 앞에서는 드물게 coumarin 화합물인 umbelliferone이 적은 양으로 단리되었다.

DPPH radical 소거법을 이용한 항산화 실험에서 분획물중에서는 에틸아세테이트용성 분획이 매우 우수한 활성을 나타내었고, 단리된 화합물들 중에서는 (+)-catechin과 quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside가 기준물질과 유사한 항산화 활성을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. 김태욱, 1996, 한국의 수목, 교학사, pp. 49.
2. 이상극, 1999, 물푸레나무 수피의 추출성분, 강원대학교 석사학위논문.
3. 이창복, 1990, 수목학, 향문사, pp. 110~112.
4. 함연호, 2000, 사시나무속과 버드나무속 주요 수종 수피의 추출성분에 관한 연구, 강원대학교 박사학위논문.
5. Agrawal, P. K., 1989, Carbon 13 C-NMR of flavonoids, Elsevier Science Publishing Company INC, pp. 337, 445~447.
6. Agrawal, P. K., 1992, NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides, *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 10, pp. 3307~3330.
7. Bae, Y. S., J. F. W. Burger, J. P. Steynberg, D. Ferreira, and R. W. Hemingway, 1994, Flavan and Procyanidin glycosides from the bark of Blackjack oak, *Phytochemistry*, Vol. 35, No. 2, pp. 473~478.
8. Dubeler, A., G. Voltmer, V. Gora, J. Lunderstadt, and A. Zeeck, 1997, Phenols from *Fagus sylvatica* and their Role in Defence Against *Cryptococcus Fagisuga*, *Phytochemistry*, Vol. 45, No. 1, pp. 51~57.
9. Foo, L. Y. and J. J. Karchesy, 1989, Procyanidin dimers and trimers from Douglas fir inner bark, *Phytochemistry*, Vol. 28, No. 6, pp. 1743~1747.
10. GRECA, M. D., M. FERRARA, A. FIORENTINO, P. MONACO, and L. PREVITERA, 1998, Antialgal Compounds from *Zantedeschia Aethiopica*, *Phytochemistry*, Vol. 49, No. 5, pp. 1299~1304.
11. 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.
12. Harbone J. B., 1994, The Flavonoids: advances in research, Chapman & Hall.
13. MATSUDA, N. and M. KIKUCHI, 1994, A Coumarin glycoside from *Lonicera Gracilipes* Var. *Glandulosa*, *Phytochemistry*, Vol. 38, No. 3, pp. 803~804.
14. 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.
15. Slowing, K., M. Sollhuber, E. Carretero, and A. Villar, 1994, Flavonoid Glycosides from *Eugenia Jambos*, *Phytochemistry*, Vol. 37, No. 1, pp. 255~258.