

## 산겨릅나무 줄기에서 페놀성 글루코사이드의 분리

허종문 · 양은주<sup>1</sup> · 최선하 · 송경식\*

경북대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부, <sup>1</sup>생물건강 · 농업생명 인재양성사업단

### Isolation of Phenolic Glucosides from the Stems of *Acer tegmentosum* Max

Jong-Moon Hur, Eun-Ju Yang<sup>1</sup>, Sun-Ha Choi and Kyung-Sik Song\*

School of Applied Biosciences, College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, Deagu 702-701 Korea

<sup>1</sup>Agrobiotechnology Education Center, Kyungpook National University, Deagu 702-701 Korea

Received May 24, 2006; Accepted June 15, 2006

The chemical constituents of *Acer tegmentosum* Max which belongs to Aceraceae has never been reported. The stems of *A. tegmentosum* were extracted with MeOH and then successively partitioned with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, *n*-BuOH, and H<sub>2</sub>O in order to investigate the major phytochemicals. Two compounds were isolated from the *n*-BuOH fraction through silica gel and RP-18 column chromatographies. Their chemical structures were elucidated as methyl gallate 4-O-β-D-glucoside and salidroside by comparing their spectral data with those in the literature.

**Key words:** *Acer tegmentosum*, methyl gallate 4-O-β-D-glucoside, salidroside

#### 서 론

한반도에 자라고 있는 단풍나무과(Aceraceae) 식물은 신나무(*Acer ginnala*), 고로쇠나무(*A. mono*), 만주고로쇠(*A. truncatum*), 산겨릅나무(*A. tegmentosum*), 시닥나무(*A. tschonoskii* var. *rubripes*), 청시닥나무(*A. barbinerve*), 부계꽃나무(*A. ukurunduense*), 단풍나무(*A. palmatum*), 복자기(*A. triflorum*), 복장나무(*A. mandshuricum*) 등의 18여종이 알려져 있다.<sup>1)</sup> 이들 중, 신나무(*Acer ginnala*)의 어린 싹은 차조아라 하여 간열목적, 감창두통을 치료하는데 사용하고, 거풍제습, 활혈거어의 효능이 있는 고로쇠나무(*A. mono*)의 수피는 지금적이라 하여 풍습골통, 골절, 타박손상 등의 치료에 사용하였으며, 그 외에도 복자기(*A. triflorum*)의 수액을 삼화척, 단풍나무(*A. palmatum*)의 잎을 계조척이라 하여 담천해소와 복통 및 관절산통 치료에 각각 사용하고 있다.<sup>2)</sup>

한편 단풍나무과 18여종의 식물에 대한 성분 및 생리활성에 대한 연구는 일부 식물에 편중되어 있는데, 수액을 건강음료로 널리 이용하고 있는 고로쇠나무에는 stilbene 배당체 화합물이 함유되어 있어 간보호작용<sup>3)</sup>과 산화적 스트레스 보호작용<sup>4)</sup>이 있다고 하며, 신나무에서는 accertannin 등의 가수분해형 tannin류,

quercetin, rutin 등의 flavonoid류, gallic acid 유도체 및 ilexoside O와 K의 saponin류가 잎과 줄기에서 분리되어<sup>5-6)</sup> 항돌원변이성 및 세포독성효과,<sup>7)</sup> 항산화 효과,<sup>8)</sup> aldose reductase 억제활성<sup>9)</sup> 등이 연구되어 있다.

산겨릅나무(*A. tegmentosum* Max)는 줄기를 중국에서는 청해척이라 하여 소종과 외상출혈 치료에 사용하고 있으며<sup>2)</sup>, 한국에서는 최근에 민간에서 별나무, 혹은 산청목이라 하여 주로 간암, 간경화 등의 간질환 치료제로 서울 경동시장을 비롯한 전국 한약재 전문시장에서 고가로 널리 유통되고 있다. 그러나 산겨릅나무에 함유되어 있는 성분연구가 전무하여 식물화학적 근거가 없을 뿐 아니라 이 식물에 대한 생리활성 연구도 이루어져 있지 않아 안전성, 오남용 등의 문제점을 가지고 있다. 이에 본 연구에서는 산겨릅나무의 식물화학적 기초자료를 확보하기 위하여 우선 줄기를 대상으로 chromatography를 행하여 화합물을 분리하고 분광학적 기기분석을 이용하여 화학구조를 동정하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

**실험재료.** 실험에 사용한 산겨릅나무 줄기는 2004년 3월에 서울 경동시장 한약도매상에서 절단하여 건조한 것을 구입하여 사용하였으며 표본은 경북대학교 농업생명과학대학 천연물화학실에 보관 중이다(voucher specimen no. KNUNPC-AT1).

**시약 및 기기.** 분리한 성분의 1D(<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C 및 DEPT) NMR분

\*Corresponding author  
Phone: 82-53-950-5715; Fax: 82-53-956-5715  
E-mail: kssong@knu.ac.kr

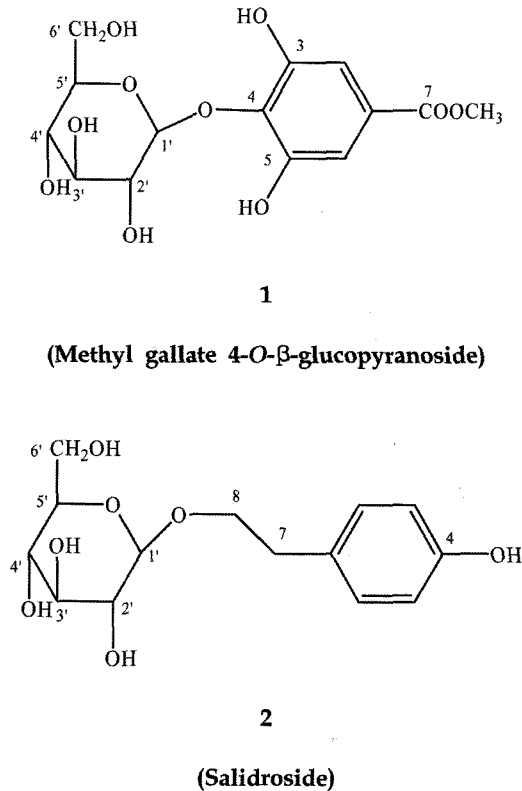


Fig. 1. Structures of isolated compounds from stems of *A. tegmentosum*.

식은 Bruker사 Avance Digital 400 spectrophotometer (Karsruhe, Germany)를 사용하여 400 MHz와 100 MHz에서 측정하였으며, 2D(HMBC와 HMQC) NMR은 Varian사 INOVA FT-NMR spectrophotometer 500 MHz(USA)를 사용하였다. 이 때 표준물질로서는 TMS를 사용하였다. EI-MS 분석은 Jeol사의 JMS 700을 사용하여 positive ion mode에서 측정하였다. TLC는 precoated silica gel(Kieselgel 60F254)을, column용 순상 충전제로 70-230 mesh silica gel(Art. 7734)를, 역상으로 RP-18 (Art. 19850)을 각각 Merck사(NJ, USA)에서 구입하여 사용하였다. 용매 및 기타 시약은 일급 및 특급 시약을 사용하였다.

**추출 및 정제.** 산겨릅나무 줄기(1 kg)를 MeOH에 7일간 실온에서 3회 반복 냉침추출한 후, 추출액을 감압농축기를 이용, 용매를 제거하여 추출물 43.1 g을 얻었다. 이 추출물을 10% MeOH로 현탁시킨 다음, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, *n*-BuOH, H<sub>2</sub>O 순으로 계통분획하여 8.5 g, 13.2 g, 15 g을 각각 얻었다. 이 중 *n*-BuOH 가용성 분획(13 g)에 대하여 silica gel column(9.5×45 cm) chromatography 하였으며, 이 때 용매로 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(5:1:1, 25:6:5, 7:2.5:1, 65:30:10, 65:35:10)를 사용하여 극성을 증가시키면서 용출하여 TLC 패턴에 따라 4개의 fraction으로 나누었다(AT1-4). AT3 fraction(3.5 g)에 대하여 용출용매로 EtOAc-MeOH(100:1, 70:1)를 사용하는 silica gel column(2.5×60 cm) chromatography를 다시 행하여 5개의 fraction(AT3-1~5)을 얻었으며, AT3-2 fraction으로부터 화합물 1(738 mg)을 얻었다. 또한 AT3-3 fraction(350 mg)에 대하여 RP-18 역상충진제를 사용한 column(2.5×60 cm, H<sub>2</sub>O-MeOH = 7:1) chromatography

를 행하여 4개의 fraction을 얻었으며(AT3-3-A~D), AT3-3-B fraction에서 화합물 2(50 mg)를, AT3-3-C fraction에서 화합물 1(148 mg)을 각각 얻을 수 있었다.

**화합물 1.** <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ: 8.97 (2H, brs, OH×2), 6.94 (2H, s, H-3, 5), 4.72 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1'), 3.78 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO) δ: 166.2 (C=O), 150.7 (C-3, 5), 137.3 (C-4), 126.2 (C-1), 108.9 (C-2, 6), 105.2 (C-1'), 77.6 (C-3'), 76.2 (C-5'), 74.0 (C-2'), 69.8 (C-4'), 60.9 (C-6'), 52.4 (OCH<sub>3</sub>).

**화합물 2.** <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.06 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2, 6), 6.69 (2H, *J*=8.4 Hz, H-3, 5), 4.29 (1H, *J*=7.8 Hz, H-1'), 4.03 (1H, m, H-7α), 3.67 (1H, t, *J*=6.6 Hz, H-7β), 2.83 (2H, t, *J*=6.6 Hz, H-8), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 157.0 (C-4), 131.2 (C-2, 6), 130.9 (C-1), 116.3 (C-3, 5), 104.5 (C-1'), 78.3 (C-5'), 78.1 (C-3'), 75.3 (C-2'), 72.3 (C-8), 71.8 (C-4'), 62.9 (C-6'), 36.6 (C-7).

## 결과 및 고찰

산겨릅나무 줄기의 *n*-BuOH 가용부를 silica gel과 RP-18 column chromatography를 하여 AT3-2와 AT3-3-C fraction에서 화합물 1을, AT3-3-B fraction에 화합물 2를 각각 분리하였고, 수득량으로 보아 화합물 1이 산겨릅나무 줄기 중 함유된 주 화합물임을 알 수 있었다.

화합물 1은 EI-MS 분석에서 [M+1]<sup>+</sup>가 *m/z* 345.09에서 검출되었다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 δ 8.97(2H, s)에서 두 개의 hydroxy signal이, δ 6.94(2H, s)에서 aromatic ring의 sp<sup>2</sup> proton signal이, δ 4.72(1H, d, *J*=8.0)에서 β-configuration을 갖는 anomeric proton signal이, δ 3.78(3H, s)에서 methoxyl proton signal이 각각 관측되어 방향족 화합물의 배당체임을 알 수 있었다. 그리고 <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서는 12개의 peak가 관측되었는데, aromatic region의 signal들은 methyl gallate와 매우 유사하였으며 당으로 예상되는 signal들은 glucose와 거의 일치하였다. 한편, C-3 및 5의 chemical shift는 methyl gallate의 문헌치<sup>10)</sup> 보다 5.1 ppm 저자장 이동하여 δ 150.7에서 관측되었고, C-4는 0.9 ppm 고자장 이동하여 δ 138.5에서 관측되는 것으로 미루어 C-4위치의 hydroxy기에 당이 결합하였을 것으로 추정하였으며 HMBC에서 δ 4.72의 H-1'이 δ 137.3의 C-4와 correlation spot를 나타낸다는 사실을 통하여 이를 재확인할 수 있었다. 또한, methyl기를 제외한 11개 peak가 gallic acid 4-O-β-D-glucoside<sup>11)</sup>와 거의 비슷하였으며 methyl기의 위치는 HMBC에서 확인하였는데, δ 3.78 proton이 δ 166.2의 carbonyl 기와 correlation spot를 나타내어 ester 형태로 결합되어 있는 것을 알 수 있었다. 이상의 기기분석 결과를 토대로 화합물 1은 methyl gallate 4-O-β-D-glucoside로 동정하였다.

화합물 2는 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 δ 7.06 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2, 6)과 δ 6.69 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3, 5)에서 전형적인 *para*-substituted benzene ring의 signal을 나타냈으며 δ 4.03(1H, m, H-7α), 3.67 (1H, t, *J*=6.6 Hz, H-7β), 2.83 (2H, t, *J*=6.6 Hz, H-8) 등에서 resonance가 관측되었다. <sup>13</sup>C-

NMR에서는 세 개의 methylene 탄소를 포함하여 총 14개의 탄소가 관측되었으며 chemical shift로 미루어 1개의 glucose를 구조 중 함유하는 것으로 생각되었다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 δ 4.29(1H)의 anomeric proton의 coupling constant가 7.8 Hz인 것으로 미루어 당은 β형태의 configuration을 가진 것으로 판단할 수 있었다. 이상의 결과를 문헌치<sup>12)</sup>와 비교한 결과 화합물 2는 4-hydroxy phenylethyl β-D-glucoside인 salidroside로 동정할 수 있었다.

분리된 2종의 화합물 중 산겨릅나무에 함유되어 있는 주 화합물 methylgallate 4-O-β-D-glucoside는 Phegopteris connectilis,<sup>13)</sup> Carpinus cordata<sup>14)</sup> 및 대황<sup>15)</sup>에서 이미 분리된 바 있으나, 활성에 관한 연구는 거의 없다. 또한 화합물 2(salidroside)는 참들꽃<sup>12)</sup>, Rhodiola creulata<sup>16)</sup>, Millingtonia hortensis<sup>17)</sup> 등의 수종의 식물에 함유되어 있는 것으로 알려져 있고, 항산화, amyloid-β에 의한 산화적 스트레스에 대한 신경세포보호작용,<sup>18)</sup> 지질과산화 억제,<sup>19)</sup> bone marrow cell cycle에 미치는 영향,<sup>20)</sup> carbohydrate 대사에 미치는 영향<sup>21)</sup> 등의 연구결과가 보고되어 있다. 산겨릅나무는 그 줄기를 산경목, 벌나무라 하여 서울 경동시장을 비롯한 전국 주요 한약재 시장에서 간암, 간경화 등의 간질환의 치료에 효과가 있다고 하여 고가에 판매되고 있으나 이들 질환에 대한 효과를 증명할 수 있는 성분 및 활성에 관한 연구가 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서 밝힌 산겨릅나무의 성분은 활성 연구 및 지표성분의 설정 등에 필요한 기초적 지견을 제공해 줄 것으로 생각되며, 특히 본 식물에 대한 성분 연구가 보고된 적이 없어 식물화학적 견지에서도 그 의의가 매우 크다고 판단된다.

## 초 록

산겨릅나무(*A. tegmentosum*)의 성분 연구를 위하여 줄기를 MeOH로 추출하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, *n*-BuOH 및 H<sub>2</sub>O 순으로 분획하였다. *n*-BuOH fraction에 대하여 silica gel과 RP-18 column chromatography를 행하여 2종의 화합물을 분리하였다. 이들 화합물의 구조는 spectral data를 문헌치와 비교하여 methyl gallate 4-O-β-D-glucoside(1)와 salidroside(2)로 동정하였다. 이들 화합물은 산겨릅나무에서 처음으로 분리되었다.

## 감사의 글

본 연구는 2005년-2006년도 산자부 인력양성지원사업의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

- Lee T. B. (1993) In *Illustrated flora of Korea*. Hyang Mun Sa, Seoul, Korea.
- Shu, P. G. (1994) In *Atlas of Chinese Materia Medica*, Yeogang Publisher, Seoul, Korea.
- Yang, H., Sung, S. H. and Kim Y. C. (2005) Two new hepatoprotective stilbene glycosides from *Acer mono* leaves. *J. Nat. Prod.* **68**, 101-103.

- Yang, H., Lee, M. K. and Kim, Y. C. (2005) Protective activities of stilbene glycosides from *Acer mono* leaves against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in primary cultured rat hepatocytes. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 4182-4186.
- Park, W. Y. (1996) Phenolic compounds from *Acer ginnala* Maxim. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**, 212-218.
- Son, Y. K. and Han, Y. N. (2002) Isolation of triterpenoid saponins from the stems of *Acer ginnala* Maxim. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**, 301-304.
- Oh, H. S., Cui, C. B., Choi, H. T., Kim, S. H., Jeon, M. S. and Ham, S. S. (2004) Antimutagenic and cytotoxic effects of *Acer ginnala* Marx. bark extracts. *Kor. J. Food Preserv.* **11**, 550-556.
- Han, S. S., Lo, S. C., Choi, Y. H., Kim, M. J. and Kwak, S. S. (1999) Antioxidative compounds in extracts of *Acer ginnala* Max. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **7**, 51-57.
- Kim, H. Y. and Oh, J. H. (1999) Screening of Korean forest plants for rat lens aldose reductase inhibition. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**, 184-188.
- Park, J. G., Park, J. C., Hur, J. M., Park, S. J., Choi, D. R., Shin, D. Y., Park, K. Y., Cho, H. W. and Kim, M. S. (2000) Phenolic compounds from *Orostachys japonicus* having anti-HIV protease activity. *Nat. Prod. Sci.* **6**, 117-121.
- Schuster, B., Winter, M. and Herrmann, K. (1986) 4-O-β-D-Glucosides of hydroxybenzoic acid and hydroxycinnamic acids - their synthesis and determination in berry fruit and vegetable. *J. Biosci.* **41**, 511-520.
- Kim, S. J., Kim, K. S., Hwang, S. J., Chon, S. U., Kim, Y. H., Ahn, J. C. and Hwang, B. (2004) Identification of salidroside from *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. and its production through cell suspension culture. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **12**, 203-208.
- Adam, K. P. (1999) Phenolic constituents of the fern *Phegopteris connectilis*. *Phytochemistry* **52**, 929-934.
- Lee, J. S., Kim, H. J., Park, H. and Lee, Y. S. (2002) New diarylheptanoids from the stems of *Carpinus cordata*. *J. Nat. Prod.* **65**, 1367-1370.
- Kashiwada, Y., Nonaka, G. H. and Noshioka, I. (1986) Tannins and related compounds. XLVII. *Rhubarb*. (6). Isolation and characterization of new p-hydroxyphenylbutanones, stilbenes and gallic acid glucosides. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 3237-3243.
- Han, X., Zhang, T., Wei, Y., Cao, X. and Ito, Y. (2002) Separation of salidroside from *Rhodiola crenulata* by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A* **971**, 237-241.
- Hase, T., Kawamoto, Y., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K. and Pichansoonthon, C. (1995) Cyclohexylethanoids and related glucosides from *Millingtonia hortensis*. *Phytochemistry* **39**, 235-241.
- Jang, S. I., Pae, H. O., Choi, B. M., Oh, G. S., Jeong, S., Lee, H. J., Kim, H. Y., Kang, K. H., Yum, Y. G., Kim, Y. C. and Chung, H. T. (2003) Salidroside from *Rhodiola sachalinensis* protects neuronal PC12 cells against cytotoxicity induced by amyloid-β. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **25**, 295-304.
- Zhang, Y. and Liu, Y. (2005) Study on effects of salidroside on lipid peroxidation on oxidative stress in rat hepatic stellate cells. *Zhong Yao Cai* **28**, 794-796.
- Zhang, X. S., Zhu, B. D., Hung, X. Q. and Chen, Y. F. (2005)

Effect of salidroside on bone marrow cell cycle and expression of apoptosis-related proteins in bone marrow cells of bone marrow depressed anemia mice. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* **36**, 820-823.

21. Wang, S. H., Wang, W. J., Wang, X. F., Chen, W. H. (2004) Effects of salidroside on carbohydrate metabolism and differentiation of 3T3-L1 adipocytes. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* **2**, 193-195.