목재공학 34(6): 72~80, 2006
Mokchae Konghak 34(6): 72~80, 2006

일본잎갈나무 낙엽의 페놀성 화합물*[1]

권 동 주*[2] · 김 진 규*[2] · 배 영 수*[2]†

Phenolic Compounds from Fallen Needle of *Larix kaempferi* Carr.*[1]

Dong-Joo Kwon*[2] · Jin-Kyu Kim*[2] · Young-Soo Bae*[2]†

요 약

일본잎갈나무 낙엽(8.5 kg)을 채취하여 95% 에탄올 용액으로 추출하고 농축한 후 분획깔때기로 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성으로 순차 추출하여 동결건조하였다. 에틸아세테이트용성과 수용성 분획에 대하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였고, 충진물질로는 Sephadex LH-20을, 용리용매로는 메탄올 수용액 및 에탄올-헥산 혼합용액을 사용하였다. 단리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 NMR 스펙트럼을 사용하여 구조규명을 하였고 FAB-MS와 EI-MS 스펙트럼으로 분자량을 측정하여 7개의 flavonoid 화합물인 (+)-catechin, (-)-epicatechin, 2″-O-rhamnosylvitexin, juglanin, afzelin, laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside 및 isoquercitrin과 neolignan 화합물인 cedrusin을 단리하였다.

ABSTRACT

Fallen needle (8.5 kg) of *Larix kaempferi* were collected and extracted with 95% EtOH. The EtOH extracts were evaporated under reduced pressure, concentrated, and successively fractionated with a series of hexane, methylene chloride, ethylacetate and water on a separatory funnel to be freeze dried. A portion of ethylacetate and water soluble powder were chromatographed on a Sephadex LH-20 column eluting with aqueous MeOH and EtOH-hexane mixture. Spectrometric analyses such as NMR and FAB-MS, including TLC, were performed on the seven isolated compounds and were elucidated as (+)-catechin, (-)-epicatechin, 2″-O-rhamnosylvitexin, ju-

* [1] 접수 2006년 9월 25일, 채택 2006년 10월 26일
본 연구의 일부는 농림부 농림기술개발사업(202099-3)의 지원에 의해 수행되었음.
* [2] 강원대학교 산림과학대학 임산공학과, Dept. of Wood Science & Engineering, College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.
† 주저자(Corresponding author) : 배영수 (e-mail: bae@kangwon.ac.kr)

glanin, afzelin, laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside, isoquercitrin and cedrusin.

Keywords: *Larix kaempferi* Carr., ethanol extracts, chromatography, ethyl acetate soluble, water soluble, flavonoids, neolignan

1. 서 론

일본잎갈나무(*Larix kaempferi* Carr.)는 소나무과(Pinaceae) 잎갈나무속(*Larix*)에 속하는 낙엽 침엽교목이다. 소나무과는 북반구 전역에 10속 250종이 분포하며 우리나라에는 6속 25종이 있고, 잎갈나무속은 10종이 북반구 한대에 분포하며 우리나라에는 잎갈나무(*L. gemlini* var. *principisruprechtii* Pilger.)와 일본잎갈나무(*L. kaempferi* Carr.) 2종이 있다. 일본잎갈나무는 일본 원산으로 1904년에 도입되었으며 중부 이남에 대량으로 식재되어 있는 우리나라 주요 조림수종의 하나이다. 목재는 건축재, 펄프재 등에 쓰이고 수피에서는 테르핀유를 채취하고 잎과 함께 민간에서는 발모(發毛), 치통(齒痛), 통경(痛經) 등에 약용으로 사용된다(김, 1996; 조 등, 2003).

일본잎갈나무 잎의 추출성분에 대한 연구로는 Takehara 등(1979a, 1979b)은 *L. leptolepis* 변재부 에탄올 추출물로부터 lariciresinol, seco-iso lariciresinol, pinoresinol 등 3개의 lignan과 taxifolin, katsuranin, naringenin 등 3개의 flavonoid를 단리하였으며, 3개의 dihydrobenzofuran 유도체를 단리하여 보고하였다. Miki 등(1979, 1980)은 *L. leptolepis* 내수피 에탄올 추출물로부터 4개의 glycerol 유도체와 4개의 dihydrobenzofuran 유도체 및 3개의 phenylpropanol 배당체를 단리하였고, *L. leptolepis* 심재부 에탄올 추출물로부터 3개의 새로운 lignan계 화합물인 guaiacylglycerol-β-guaiacylglycerol ether, leptolepisol D, leptolepisol E 등을 포함하는 많은 lignan을 NMR 스펙트럼 위주로 비교분석하여 보고하였다. Yoon 등(2000)은 *L. leptolepis* 심재부 에탄올 추출물로부터 taxifolin, quercetin, aromadendrin을 단리하였으며, DPPH에 의한 free radical 소거능을 검정한 결과, taxifolin과 quercetin은 천연 항산화제인 α-tocopherol과 합성 항산화제인 BHT보다 항산화활성이 우수함을 보고한 바 있다.

본 연구는 일본잎갈나무 잎을 효율적으로 이용하기 위하여 낙엽의 추출성분을 분리하고 화학구조를 결정하여 추후 기타 생리활성 등을 검정하여 기능성 향장품 산업에 응용하기 위한 자료를 얻기 위해 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

일본잎갈나무 낙엽은 2001년 12월과 2002년 11월에 강원도 홍천군 봉명리 소재의 강원대학교 학술림에서 채취하여 실험실에서 2주 이상 건조시킨 후 분쇄기를 이용, 분말로 제조하여 추출용 시료로 사용하였다.

2.2. 추출물의 조제 및 분획

기건 된 낙엽 8.5 kg을 95% 에탄올 용액으로 3일간 침지하여 추출하였으며, 충분한 양을 얻기 위하여 이와 같은 조작을 3회 반복 실시하였고, 추출액은 감압농축기를 이용하여 농축하였다.

농축된 추출용액은 분획깔때기로 헥산, 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 및 수용성으로 순차 추출한 후 농축하였으며, 각각의 추출용액은 냉동 후 동결건조하여 분말로 제조하였다. 동결건조된 각 분획물의 양은 조추출물 20.3 g, 헥산용성 12.3 g, 메틸렌클로라이드용성 3.0 g, 에틸아세테이트용성 44.4 g, 수용성 340.1 g, 고형분 425.9 g을 얻었으며 본 실

험에서는 에틸아세테이트용성 27.2 g과 수용성 28.9 g을 사용하였다.

2.3. 추출물의 분리

혼합물로부터 순수한 화합물을 분리하기 위하여 에틸아세테이트용성과 수용성 분획에 대한 칼럼크로마토그래피를 실시하였고 충진물질로는 Sephadex LH-20 (25-100 mesh, Pharmacia)을, 용리용매로는 메탄올 수용액 및 에탄올-헥산 혼합용액을 사용하였다.

단리 된 화합물에 대하여 셀룰로오스 박층크로마토그래피를 실시하였고 전개용매로는 *t*-butanol-AcOH-H_2O (3:1:1, v/v/v, solvent A)와 6% AcOH (solvent B)를 사용하였다. 바닐린 발색제를 전개된 TLC (25 DC-Plastickfolien Cellulose F, Merck) 판에 분무한 후, 가열 건조하여 반응하는 색을 관찰하였다.

2.4. 화합물의 구조결정

단리된 화합물들의 구조를 규명하기 위해 강원대학교 공동실험실습관의 400 MHz의 핵자기공명분광분석기(Bruker Avance DPX)를 사용하여 ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR 및 COSY, HETCOR, HMBC 등의 2차원 NMR 스펙트럼을 측정하였고 분석용매로는 CD_3OD와 DMSO-d_6를 사용하였다. 분리된 화합물의 분자량은 질량분석기(Micromass Autospec M363)를 이용하여 EI-MS는 ion source 250℃, electron energy 70 eV 조건에서 분석하였으며, FAB-MS는 heater current 2.5 A, gun focus 17 kV 및 *m*-nitro benzyl alcohol (NBA)를 matrix로 사용하여 분석을 실시하였다.

2.5. 화합물의 단리

일본잎갈나무 낙엽의 에틸아세테이트용성 화합물 27.2 g을 MeOH-H_2O (1:1, v/v) 혼합용액을 용리용매로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 부분으로 분리하여 KDLE로 표기하였다. 농축 후 동결건조된 양은 KDLE-1 7.6 g, KDLE-2 10.8 g, KDLE-3 3.1 g, KDLE-4 2.3 g이었으며, KDLE-2와 KDLE-3 부분을 MeOH-H_2O (1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, v/v)와 EtOH-hexane (2:1, 3:1, 4:1, 4:3, v/v)을 용리용매로 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시한 결과 화합물 I ((+)-catechin, 86 mg), 화합물 II ((-)-epicatechin 44 mg), 화합물 IV (juglanin, 19 mg), 화합물 V (afzelin, 66 mg), 화합물 VI (laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside, 8 mg), 화합물 VII (isoquercitrin, 173 mg), 화합물 VIII (cedrusin, 28 mg)을 단리하였다.

일본잎갈나무 낙엽 수용성 화합물 29.0 g을 MeOH-H_2O (1:1, v/v) 혼합용액을 용리용매로 사용해 칼럼크로마토그래피를 실시하여 5개의 부분으로 분리하였으며 KDLH로 표기하였다. 농축 후 동결건조 된 양은 KDLH-1 19.6 g, KDLH-2 355 mg, KDLH-3 1.2 g, KDLH-4 930 mg, KDLH-5 4.2 g이었으며 KDLH-3과 KDLH-4 부분을 MeOH-H_2O (1:3, 1:5, 1:8, 1:9, v/v)와 EtOH-hexane (2:1, v/v)을 용리용매로 사용하여 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시한 결과 화합물 I ((+)-catechin, 41 mg), 화합물 II ((-)-epicatechin, 13 mg), 화합물 III (2″-O-rhamnosylvitexin, 71 mg)을 단리하였다.

2.5.1. 화합물 V : Afzelin

R_f : 0.83 (solvent A), 0.48 (solvent B); FAB-MS : calculated for $C_{21}H_{20}O_{10}$, 432, Found *m/z* 433 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, δ, CD_3OD) : 0.93 (3H, *d*, *J* = 4.4 Hz, H-CH_3 (rha)), 3.43~4.23 (4H, *m*, H-2″, 3″, 4″, 5″), 5.38 (1H, *s*, H-1″), 6.19 (1H, *s*, H-6), 6.37 (1H, *s*, H-8), 6.93 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3′, 5′), 7.75 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2′, 6′); ^{13}C-NMR (100 MHz, δ, CD_3OD) : 17.69 (C-Me), 71.95 (C-5″), 72.06 (C-3″), 72.14 (C-2″), 73.22 (C-4″), 94.79 (C-8), 99.85 (C-6), 103.52 (C-1″), 105.95 (C-10), 116.54 (C-3′, 5′), 122.65 (C-1′), 131.94 (C-2′, 6′), 136.24 (C-3), 158.54

(C-2), 159.29 (C-9), 161.58 (C-4′), 163.21 (C-5), 165.86 (C-7), 179.62 (C-4).

2.5.2. 화합물 VI : Laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside

R_f : 0.49 (solvent A), 0.11 (solvent B); FAB-MS : Calculated for $C_{22}H_{22}O_{13}$ 494, Found *m/z* 517 $[M+Na]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, δ, CD_3OD) : 3.46 ~3.95 (5H, *m*, H-2″, 3″, 4″, 5″, 6″) 3.92 (3H, *s*, $-OCH_3$), 5.40 (1H, *d*, *J* = 7.3 Hz, H-1″), 6.20 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-6), 6.39 (1H, *d*, *J* = 1.8 Hz, H-8), 7.29 (1H, *d*, *J* = 1.9 Hz, H-6′), 7.53 (1H, *d*, *J* = 1.9 Hz, H-2′); ^{13}C-NMR (100 MHz, δ, CD_3OD) : 57.04 ($-OCH_3$), 62.56 (C-6″), 71.44 (C-4″), 75.94 (C-2″), 78.14 (C-5″), 78.56 (C-3″), 94.74 (C-8), 99.94 (C-6), 103.73 (C-1″), 105.75 (C-10), 106.82 (C-2′), 111.11 (C-6′), 121.99 (C-1′), 135.58 (C-3), 138.79 (C-4′), 146.27 (C-5′), 149.04 (C-3′), 158.48 (C-2), 158.73 (C-9), 163.12 (C-5), 166.15 (C-7), 179.45 (C-4).

2.5.3. 화합물 VII : Isoquercitrin

R_f : 0.59 (solvent A), 0.19 (solvent B); FAB-MS : Calculated for $C_{21}H_{20}O_{12}$ 464, Found *m/z* 465 $[M+H]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, δ, CD_3OD) : 3.36 ~3.72 (6H, *m*, H-2″, 3″, 4″, 5″, 6″), 5.25 (1H, *d*, *J* = 7.4 Hz, H-1″), 6.19 (1H, *s*, H-6), 6.38 (1H, *s*, H-8), 6.87 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-5′), 7.58 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, H-6′), 7.72 (1H, *s*, H-2′); ^{13}C-NMR (100 MHz, δ, CD_3OD) : 62.56 (C-6″), 71.22 (C-4″), 75.75 (C-2″), 78.13 (C-5″), 78.39 (C-3″), 94.76 (C-8), 99.91 (C-6), 104.36 (C-1″), 105.70 (C-10), 116.03 (C-2′), 117.61 (C-5′), 123.08 (C-1′), 123.24 (C-6′), 135.65 (C-3), 145.90 (C-3′), 149.86 (C-4′), 158.45 (C-2), 159.03 (C-9), 163.02 (C-5), 165.99 (C-7), 179.49 (C-4).

2.5.4. 화합물 VIII : Cedrusin

R_f : 0.96 (solvent A), 0.72 (solvent B); EI-MS : Calculated for $C_{19}H_{22}O_6$ 346, Found *m/z* 346 $[M]^+$; ^{1}H-NMR (400 MHz, δ, CD_3OD) : 1.79 (2H, *m*, H-β′), 2.56 (2H, *t*, *J* = 7.6 Hz, H-α′), 3.44 (1H, *m*, H-β), 3.56 (2H, *t*, *J* = 6.5 Hz, H-r′), 3.75 (2H, *m*, H-r), 3.81 (3H, *s*, $-OCH_3$), 5.49 (1H, *d*, *J* = 6.1 Hz, H-α), 6.57 (1H, *br s*, H-2′), 6.60 (1H, *br s*, H-6′), 6.76 (1H, *d*, *J* = 8.1 Hz, H-5), 6.84 (1H, *dd*, *J* = 1,7 Hz and *J* = 8.1 Hz, H-6), 6.98 (1H, *d*, *J* = 1.7 Hz, H-2); ^{13}C-NMR (100 MHz, δ, CD_3OD) : 32.75 (C-α′), 35.82 (C-β′), 55.76 (C-β), 56.40 ($-OCH_3$), 62.35 (C-r′), 65.16 (C-r), 88.72 (C-α), 110.56 (C-2), 116.12 (C-5), 116.70 (C-6′), 117.03 (C-2′), 119.71 (C-6), 129.83 (C-5′), 135.13 (C-1), 136.75 (C-1′), 141.88 (C-3′), 146.52 (C-4′), 147.36 (C-4), 149.07 (C-3).

3. 결과 및 고찰

일본잎갈나무 낙엽의 추출성분을 조사하기 위하여 에틸아세테이트용성(27.2 g) 및 수용성 화합물(29.0 g)을 Sephadex LH-20으로 반복적인 칼럼크로마토그래피를 수행하여 8종류의 페놀성 화합물을 분리하고 NMR을 이용하여 그 구조를 규명하였다. 그중에서 (+)-catechin (Ⅰ), (-)-epicatechin (Ⅱ), 2″-O-rhamnosylvitexin (Ⅲ) 및 juglanin (Ⅳ)은 일본잎갈나무 잎의 후라보노이드 배당체에 관한 연구(김 등, 1997)에서 이미 보고된 바 있다.

3.1. 화합물 V : Afzelin

화합물 V는 노란색 분말로 에틸아세테이트용성에서 단리되었으며 R_f는 0.83 (solvent A)과 0.48 (solvent B)이었다. 이 화합물은 aglycone인 kaempferol의 C-3에 rhamnose가 결합하고 있는 형태의 구조이다. ^{1}H-NMR 스펙트럼의 6.19 ppm과 6.37 ppm singlet은 H-6과 H-8로 에 해당하는 것으로

singlet 피크로 나타나고, H-3′, 5′과 H-2′, 6′은 *ortho* coupling되어 *J*값은 각각 8.5 Hz의 doublet 피크로 나타나며 적분값은 한 개의 피크가 두 개의 수소임을 보이고 있는 것으로 보아 서로 대칭인 구조임을 알 수 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼의 94.79 ppm과 99.85 ppm은 C-8과 C-6의 피크이며 수산기가 결합되어 있는 C-5와 C-7은 163.21 ppm과 165.86 ppm에서 나타나고 있다. B환의 C-3′, 5′과 C-2′, 6′은 116.54 ppm과 131.94 ppm에서 다른 탄소들의 피크보다 크게 나타나고 있으며 C-4′은 수산기가 결합되어 있어 downfield되어 161.58 ppm에서 피크를 보이고 있는데, 이것으로 보아 phloroglucinol A환과 페놀환으로 이루어져 있음을 알 수 있다.

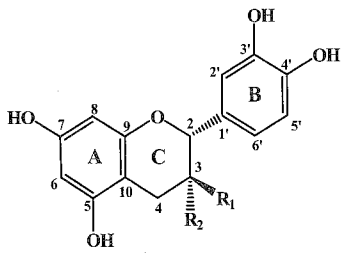
^{1}H-NMR 스펙트럼에서 5.38 ppm의 singlet 피크는 C-3에 결합하고 있는 rhamnose의 anomeric 수소인 H-1″으로 singlet인 것으로 보아 *α*-L-rhamnose인 것을 알 수 있으며 나머지 rhamnose의 H-2″, 3″, 4″, 5″은 3.43~4.23 ppm에서 피크를 보이고 있으며 methyl기 3개의 수소는 0.93 ppm에서 전형적인 피크를 나타내고 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 rhamnose C-1″은 aglycone의 C-3과 결합을 하고 있어 rhamnose의 나머지 탄소들보다 downfield되어 103.52 ppm에서 나타나고 C-2″, 3″, 4″, 5″은 72.14 ppm, 72.06 ppm, 73.22 ppm, 71.95 ppm에 나타나고 있고 methyl기 탄소는 17.69 ppm에서 전형적인 피크를 보이고 있는데 이것은 Agrawal (1989)이 보고한 rhamnose의 NMR값과 동일하게 나타나고 있다. 또한, 158.54 ppm과 136.24 ppm의 피크는 C-2와 C-3에 해당하는 것으로 C-2가 kaemperol보다 약 10 ppm downfield된 것으로 보아 C-3에 rhamnose가 결합하고 있다는 것을 알 수 있었으며 carbonyl 탄소인 C-4는 C-2, 3이 이중결합이고 C-3에 결합한 rhamnose의 영향으로 179.62 ppm에서 나타나고 있다. 이상은 Kazuma 등(2003)과 Han 등(2001)이 단리한 kaempferol 배당체 화합물과 동일한 NMR값을 보이고 있으며, FAB-MS 스펙트럼에서 $[M+H]^+$ *m/z* 433으로 이 화합물의 분자량 432와 일치하였다.

3.2. 화합물 VI : Laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside

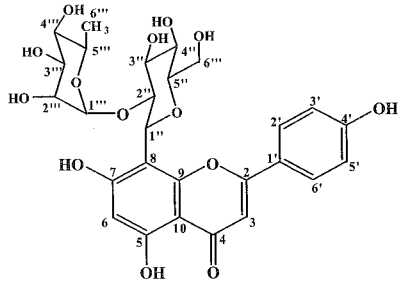
화합물 VI는 갈색의 분말로 에틸아세테이트용성에서 단리되었으며, R$_f$는 0.49 (solvent A)와 0.11 (solvent B)이었다. 이 화합물은 myricetin의 C-3′ 위치에 methoxyl group이 결합하고 있는 aglycone인 laricitrin의 C-3에 glucose가 결합하고 있는 구조이다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 H-6과 H-8은 서로 *meta* coupling되어 각각 1.8 Hz의 *J*값을 가지는 doublet으로 6.20 ppm과 6.39 ppm에서 나타나고 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼의 99.94 ppm과 94.74 ppm은 C-6과 C-8의 피크가 나타나는 것으로 보아 phloroglucinol A환임을 알 수 있다. 또한, C-2와 C-3은 이중결합으로 158.48 ppm과 135.58 ppm에서 피크가 나타나는데, C-2가 함(2000)이 보고한 myricetin의 C-2 보다 약 11 ppm downfield되고 C-3이 약 1 ppm upfield된 것으로 보아 C-3에 glucose가 결합하고 있다는 것을 알 수 있다. C-4는 C-3에 glucose가 결합을 하고 있는 영향으로 myricetin의 C-4 보다 약 3 ppm downfield되어 179.45 ppm에서 피크를 보이고 있다. 이것은 Kang 등(1990)이 *Ginkgo biloba*의 잎에서 단리한 laricitrin 배당체의 C환과 일치하고 있다.

^{1}H-NMR 스펙트럼에서 수소 세 개의 적분값을 보이는 3.92 ppm의 singlet 피크는 methoxyl group 전형적인 특징이다. glucose의 H-1″은 5.40 ppm에서 나타나는데 *J*값이 7.3 Hz인 것으로 보아 *β*-D-glucose임을 알 수 있으며, ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 glucose의 C-1″은 103.73 ppm에서 피크를 보이고 있으며, methoxyl group 탄소는 57.04 ppm에서 전형적인 피크를 보이고 있다.

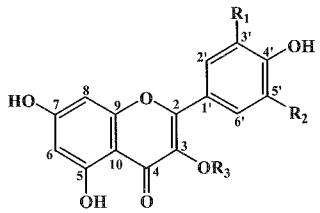
한편, pyrogallol B환은 C-3′에 methoxyl기가 결합하고 있는 비대칭 구조로 함(2000)이 보고한 myricetin의 pyrogallol B환과는 다른 형태의 피크를 보이고 있다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 H-2′과 H-6′은 서로 *meta* coupling되어 7.53 ppm과 7.29 ppm에서 *J*값이 1.9 Hz로 동일한 doublet 피크로 나타나고 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 C-2′과 C-3′은



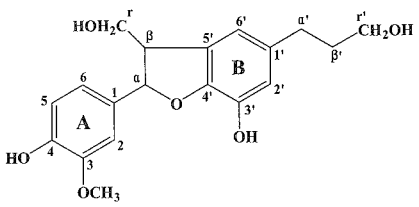
(+)-catechin (Ⅰ) : R_1 = OH, R_2 = H
(-)-epicatechin (Ⅱ) : R_1 = H, R_2 = OH



2''-O-rhamnosylvitexin (Ⅲ)



Juglanin (Ⅳ) : R_1, R_2 = H, R_3 = α-L-arabinofuranose
Afzelin (Ⅴ) : R_1, R_2 = H, R_3 = α-L-rhamnose
Laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside (Ⅵ) : R_1, = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = glucose
Isoquercitrin (Ⅶ) : R_1, = OH, R_2 = H, R_3 = β-D-glucose



Cedrusin (Ⅷ)

Fig. 1. Chemical structures of the isolated compounds.

Kazuma 등(2003)이 *Clitoria ternatea* 꽃잎에서 분리한 myricetin 배당체 화합물의 C-2'보다 약 4 ppm upfield되어 나타나고 C-3'보다 약 3 ppm downfield되어 106.82 ppm과 149.04 ppm에서 피크가 나타나는 것으로 보아 methoxyl기가 결합하고 있다는 것을 알 수 있다. 이상은 Slimestad 등(1995)이 보고한 화합물과 일치하고 있고, Hussein 등(2003)이 *Eugenia edulis*에서 분리한 myricetin-3, 5, 3'-trimethyl ether B환의 NMR값과 일치하고 있다. Harbone과 Mabry (1982)는 *Larix*, *Cedrus*속 및 다른 속에서도 동일한 화합물을 분리하였다고 보고한 바 있다.

HMQC 스펙트럼에서 탄소에 직접 결합하고 있는 수소와의 상관관계를 확인하였으며, HMBC 스펙트럼으로 methoxyl group 수소들이 C-3'과 C-4'에 상관관계를 확인하였다. FAB-MS 스펙트럼에서 [M+

Na]$^+$ *m/z* 517로 이 화합물의 분자량 494와 일치하였다.

3.3. 화합물 Ⅶ : Isoquercitrin

화합물 Ⅶ은 노란색의 분말로 에틸아세테이트용성에서 단리되었으며 R_f는 0.59 (solvent A)와 0.19 (solvent B)이었다. 이 화합물은 aglycone인 quercetin의 C-3 위치에 glucose가 결합하고 있는 구조이다.

^{1}H-NMR 스펙트럼에서 catechol B환의 H-2′은 H-6′과 *meta* coupling되어 doublet으로 나타나야 하지만 7.72 ppm에서 singlet 피크로 나타나고 있고, H-5′과 H-6′은 서로 *ortho* coupling되어 *J*값이 8.4 Hz로 동일하며 각각 6.87 ppm과 7.58 ppm에서 doublet 피크로 나타나고 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 수산기가 결합되어 있지 않은 C-2′, 5′, 6′은 116.03 ppm, 117.61 ppm, 123.24 ppm에서 피크를 보이고 수산기가 결합되어 있는 C-3′, 4′은 크게 downfield되어 145.90 ppm과 149.86 ppm에서 나타나고 있다.

또한, ^{1}H-NMR 스펙트럼의 6.19 ppm과 6.38 ppm에서 나타나는 피크는 H-6과 H-8로 서로 *meta* coupling이 일어나지 않아 singlet의 피크를 보이고 있으며, ^{13}C-NMR 스펙트럼의 94.76 ppm과 99.01 ppm은 C-8과 C-6의 피크로 phloroglucinol A환임을 알 수 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 C-2와 C-3은 Yoon 등(2000)이 *L. leptolepis* 심재부에서 단리한 quercetin의 C-2 보다 13 ppm 정도 downfield되고, C-3이 2 ppm upfield되어 158.45 ppm과 135.65 ppm에서 나타나는 것으로 보아 C-3에 glucose가 결합을 하고 있다는 것을 알 수 있다. Carbonyl 탄소인 C-4는 인접한 C-2, 3이 이중결합이고 C-3에 glucose가 결합한 영향으로 인하여 179.49 ppm에서 나타나고 있다. Glucose의 H-1″은 *J*값이 7.4 Hz인 것으로 보아 β-D-glucose 결합임을 알 수 있으며, ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 aglycone과 결합을 하고 있는 glucose의 C-1″은 104.36 ppm에서 나타나고 있다. 이상의 결과는 Kazuma 등(2003)과 이(2003)가 단리한 quercetin 배당체 화합물의 NMR값과 비교 분석하고 Kim 등(2004)이 *Eucommia ulmoides*의 잎에서 단리한 화합물과 동일한 NMR값을 보이고 있으며, FAB-MS 스펙트럼에서 〔M+H〕$^+$ *m/z* 465로 이 화합물의 분자량 464와 일치하고 있다.

3.4. 화합물 Ⅷ : Cedrusin

화합물 Ⅷ은 갈색의 점액질로 에틸아세테이트용성에서 단리되었으며, R_f는 0.96 (solvent A)과 0.72 (solvent B)이었다. ^{1}H-NMR 스펙트럼에서 H-2는 H-6과 *meta* coupling되고 H-5는 H-6과 *ortho* coupling되어 *J*값은 각각 1.7 Hz와 8.1 Hz로 6.98 ppm과 6.76 ppm에서 doublet 피크로 나타나며 H-6은 H-5와 *ortho* coupling되고 H-2와 *meta* coupling되어 8.1 Hz와 1.7 Hz의 두 개의 *J*값을 갖는 double doublet 피크가 나타나는 것으로 보아 catechol환임을 알 수 있다. H-α는 인접한 H-β의 영향으로 5.49 ppm에서 doublet 피크로 나타났으며, 3.44 ppm과 3.75 ppm에서의 multiplet 피크는 H-β와 C-γ의 두 개의 수소에 해당하는 것이고, 3.81 ppm에서는 methoxyl group 3개의 수소들의 피크가 나타난다. H-2′과 H-6′은 broad singlet 피크로 각각 6.57 ppm과 6.60 ppm에서 나타나고 있다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 C-3은 (+)-catechin의 B환과 비교하여 3 ppm 정도 downfield되어 149.07 ppm에서 피크가 나타나고 C-2는 4.5 ppm 정도 upfield되어 110.56 ppm에서 피크가 나타난 것으로 보아 methoxyl기가 C-3에 결합하고 있다는 것을 알 수 있으며, C-5와 6은 116.12 ppm과 119.71 ppm에서 피크를 보이고, 수산기와 결합되어 있는 C-4와 dihydrobenzofuran과 결합을 하고 있는 C-1은 downfield되어 147.36 ppm과 135.13 ppm에서 피크를 보이고 있고, methoxyl기 탄소는 56.40 ppm에서 전형적인 피크를 나타낸다. 또한, dihydrobenzofuran의 C-α와 C-β는 88.72 ppm과 55.76 ppm에서 피크를 보이며 이중결합인 C-4′과 C-5′은 146.52 ppm과 129.83 ppm에서 나타나고 수산기가 결합되어 있는 C-3′은 141.88 ppm에서 나타났다. 이것은 Miki (1979)가 *L. leptolepis* 외수피에서 분리한 dihydrobenzofuran 유

도체 화합물의 NMR값과 일치하였다.

^{1}H-NMR 스펙트럼에서 methylene 탄소인 C-β'의 두 개의 수소는 C-α'의 두 개의 수소와 C-r'의 두 개의 수소의 영향으로 1.79 ppm에서 multiplet 나타나며 C-α'의 두 개의 수소는 C-β'의 두 개의 수소의 영향으로 2.56 ppm에서 triplet 피크로 J값은 7.6 Hz이었고 C-r'의 두 개의 수소는 C-β'의 두 개의 수소의 영향과 수산기의 영향으로 downfield되어 3.56 ppm에서 triplet 피크를 보이며 J값은 6.5 Hz이다. ^{13}C-NMR 스펙트럼에서 C-r와 C-r'은 65.16 ppm과 62.35 ppm에서 피크를 보이며 C-α'와 C-β'은 methylene 탄소로 32.75 ppm과 35.82 ppm에서 특징적인 피크를 보이고 있다.

COSY 스펙트럼에서 H-α'과 H-β', H-β'과 H-r', H-α와 H-β, H-β와 H-r', H-2'과 H-6', H-2와 H-6 및 H-5와 H-6이 서로 상관관계를 나타내어 서로 인접한 수소임을 알 수 있었고, HMBC 스펙트럼으로 수소와 탄소의 long range coupling을 관찰하여 각 수소와 탄소의 상관관계를 비교하여 구조를 규명하였다. DEPT 스펙트럼으로 129.83~149.07 ppm 사이의 피크들이 quaternary 탄소임을 알 수 있었으며, C-α', β', r', r은 methylene 탄소임을 알 수 있었다. 이상의 결과는 Agrawal 등(1980, 1982)이 *Cedrus deodara*에서 단리한 neolignan계 화합물인 cedrusin의 NMR값과 정확히 일치하고 있으며 Takehara 등(1979b)이 *L. leptolepis* 변재부에서 단리한 dihydrobenzofuran 유도체 화합물의 NMR값과 비교 분석하여 구조를 결정하였으며, EI-MS 스펙트럼에서 $[M]^+$ m/z 346으로 이 화합물의 분자량 346과 일치하였다.

4. 결 론

일본잎갈나무 낙엽의 에틸아세테이트용성과 수용성 분획에 대해 칼럼크로마토그래피를 실시하여 (+)-catechin (127 mg), (-)-epicatechin (57 mg), 2''-O-rhamnosylvitexin (71 mg), juglanin (19 mg), afzelin (66 mg), laricitrin-3-O-β-D-glucopyranoside (8 mg), isoquercitrin (173 mg) 및 cedrusin (28 mg)을 단리하였다. 일본잎갈나무 낙엽에서는 flavan-3-ol, flavone 배당체 및 flavonol 배당체 화합물 등 다양한 화합물을 단리 하였으며 neolignan 화합물도 단리되었다. 에틸아세테이트용성과 수용성 분획 모두에서 단리 된 (+)-catechin과 (-)-epicatechin은 일본잎갈나무 낙엽의 주요한 구성성분의 일부로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 김태욱. 1996. 한국의 수목, 교학사, pp.21~22.
2. 이상극. 2003. 國內産 主要 針葉樹 잎의 抽出成分, 강원대학교 박사학위논문.
3. 조재명 외 12명. 2003. 원색 약용·식용 수목도설, 유성사, pp. 10~11.
4. 함연호. 2000. 사시나무屬과 버드나무屬 主要 樹種 樹皮의 抽出成分에 關한 硏究, 강원대학교 박사학위논문.
5. Agrawal, P. K. 1989. Carbon-13 NMR of flavonoids, Elsevier. pp. 333~335.
6. Agrawal, P. K., S. K. Agarwal, and R. P. Rastogi. 1980. A new neolignan and other phenolic constituents from *Cedrus deodara*, *phytochemistry*, Vol. 19, No. 6, pp. 1260~1261.
7. Agrawal, P. K., S. K. Agarwal, and R. P. Rastogi. 1982. Two lignans from *Cedrus deodara*, *phytochemistry*, Vol. 21, No. 6, pp. 1459~1461.
8. Han Y., S. Nishibe, Y. Noguchi, and Z. Jin. 2001. Flavonol glycosides from the stems of *Trigonella foenumgraecum*, *Phytochemistry*, Vol. 58, No. 4, pp. 577~580.
9. Harbone J. B and T. J. Mabry. 1982. The flavonoids: advance in research, Chapman and Hall Ltd. pp. 281~292.
10. Hussein, S. A. M., A. N. M. Hashem, M. A. Seliem, U. Lindequist, and M. A. M. Nawwar. 2003. Polyoxygenated flavonoids from *Eugenia edulis*, *Phytochemistry*, Vol. 64, No. 4, pp. 883~889.
11. Kang, S. S., J. S. Kim, W. J. Kwak, and K. H. Kim. 1990. Flavonoids from the Leaves of *Ginkgo biloba*, *Kor. J. Pharmacogn*, Vol. 21. No. 2, pp. 111~120.
12. Kazuma, K., N. Noda, and M. Suzuki. 2003. Malo-

nylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*, *Phytochemistry*, Vol. 62, No. 2, pp. 229~237.

13. Kim, J. K., W. G. Park, and Y. S. Bae. 1997. Flavonoid Glycosides from Needles of *Larix leptolepis* (Pinaceae), *Mokchaekonghak*, vol. 25, No. 2, pp. 81~87.
14. Kim, H. Y., B. H. Moon, H. J. Lee, and D. H. Choi. 2004. Flavonol glyco sides from the leaves of *Eucommia ulmoides* O. with glycation inhibitory activity, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 93, pp. 227~230.
15. Miki, K and T. sasaya. 1979. Glycerol Derivatives in the inner Bark of *Larix leptolepis* Gord, *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 25, No. 5, pp. 361~366.
16. Miki, K and T. sasaya. 1979. Dihydrobenzofuran Derivatives in the inner Bark of *Larix leptolepis* Gord, *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 25, No. 6, pp. 437~441.
17. Miki, K., K. Ito, and T. sasaya. 1979. Lignans from Heartwood of inner Bark of *Larix leptolepis* Gord, *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 25, No. 10, pp. 665~670.
18. Miki, K and T. sasaya. 1980. Lignans from Heartwood of *Larix leptolepis* Gord, *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 26, No. 9, pp. 633~636.
19. Slimestad, R., Q. M. Andersen, G. W. Francis, A. Marston, and K. Hostett mann. 1995. Syringetin 3-O-(6''-acetyl)-β-glucopyranoside and other Flavonols from Needles of Norway spruce, *Picea abies*, *Phytochemistry*, Vol. 40, No. 5, pp. 1537~1542.
20. Takehara, T and T. sasaya. 1979a. Lignans from Sapwood of *Larix leptolepis* Gord, *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 25, No. 7, pp. 516~517.
21. Takehara, T and T. sasaya. 1979b. Dihydrobenzofuran Derivatives from Sapwood of *Larix leptolepis* Gord, *Mokuzai Gakkaishi*, Vol. 25, No. 10, pp. 660~664.
22. Yoon, S. Y., H. J. Lee, S. S. Lee, D. H. Choi, and K. H. Paik. 2000. Studies on Biological Activity of Wood Extractives(Ⅴ)- Identification of Flavonoids from the Heartwood of *Larix leptolepis* and Their Antioxidative Activities-, *Mokchaekonghak*, vol. 28, No. 3, pp. 78~84.