

은행잎의 Flavonoid 성분에 관한 연구

姜三植* · 金周善* · 郭義宗 · 金起協

서울대학교 생약연구소*, 鮮京인더스트리 生命科學研究所

Flavonoids from the Leaves of *Ginkgo biloba*

Sam Sik Kang,* Ju Sun Kim,* Wie-Jong Kwak and Ki-Hyup Kim

Natural Products Research Institute, Seoul National University,* Seoul 110-460 and Life Science Research Center, Sunkyong Industries, 600 Jungja-Dong, Changan-Ku, Suwon-Si 440-745, Korea

Abstract—Five biflavones and seven flavonol glycosides were isolated from the leaves of *Ginkgo biloba*. They were sciadopitysin(1), ginkgetin(2), isoginkgetin(3), bilobetin(4), amentoflavone(5), kaempferol 3-O-[6'''-O-*p*-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside](6), quercetin 3-O-[6'''-O-*p*-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside](8), rutinoides of kaempferol(7), isorhamnetin(9), quercetin(10), laricitrin(11), and kaempferol 3-O-(2'', 6''- α -L-dirhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside)(12). The structures were established by spectroscopic and chemical methods.

Keywords—*Ginkgo biloba* · Ginkgoaceae · biflavone · sciadopitysin · ginkgetin · isoginkgetin · bilobetin · amentoflavone · flavonol glycoside · kaempferol 3-O-[6'''-O-*p*-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside] · kaempferol 3-O-rutinoides · quercetin 3-O-[6'''-O-*p*-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside] · isorhamnetin 3-O-rutinoides · rutin · laricitrin 3-O-rutinoides · kaempferol 3-O-(2'', 6''- α -L-dirhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside)

은행나무(*Ginkgo biloba* L.)는 은행나무과(Ginkgoaceae)에 속하는 現存하는 유일한 식물로써¹⁾ 지금까지 수많은 화합물들이 밝혀지고 있다. 잎의 성분으로는 flavonoid,²⁻⁹⁾ diterpene,^{1,10,11)} sesquiterpene,^{1,12)} polyprenol,¹³⁾ 유기산⁵⁾ 및 polysaccharide¹⁴⁾ 등이 보고되었으며 이 중에도 flavonoid 성분은 은행잎 엑기스의 主成分으로써 이를 대별하면 biflavone類, flavonol glycoside類 및 catechin類로 나눌 수 있고 이들 flavonoid 성분의 함량은 은행잎 엑기스의 約 50%를 차지한다고 보고하고 있다.¹⁷⁾ 또한 은행잎 엑기스는 많은 生物活性 및 藥理作用이 밝혀지고 있으며¹⁵⁻¹⁷⁾ 현재 상품화되어 시판되고 있으나 아직도 새로운 성분^{18,19)} 및 藥理作用²⁰⁻²³⁾이 속속

밝혀지고 있는 실정이다. 저자들은 은행잎의 主成分을 單離하고 이들 성분들의 化學構造를 究明할 目的으로 본 연구에 착수해서 12種의 flavonoid 성분을 분리, 그 化學構造를 究明하였으며 報告한다.

실험 방법

재 료

본 실험에 사용한 은행잎은 경기도 광주지방에서 8월말부터 9월초에 걸쳐 채집한 것을 건조해서 사용하였다.

기 기

용점은 Mitamura-Riken의 melting point appa-

ratus를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다. UV spectrum은 Gilford system 2600 spectrophotometer를 사용하여 측정하였으며, IR spectrum Perkin-Elmer 283B spectrophotometer를 사용하여 KBr법으로 측정하였다.

$^1\text{H-NMR}$ (80 MHz) 및 $^{13}\text{C-NMR}$ (20 MHz) spectrum은 Varian FT-80A spectrometer를 사용하였으며 TMS를 내부 표준물질로 하여 측정하였다. Mass spectrum은 Hewlett-Packard의 5985B GC/MS System을 사용하여 측정하였다.

추출 및 분리

건조 분쇄한 은행잎 5 kg을 추출병에 넣고 MeOH를 가해 3시간씩 6회 추출한 후 농축해서 MeOH 엑기스를 얻었다. 이 엑기스에 물 및 CHCl_3 을 가하여 분액여두를 사용해서 분획하여 CHCl_3 분획을 얻고, 수층은 다시 EtOAc로 추출해서 EtOAc 분획(55.5 g)을 얻었다. 수층은 계속해서 BuOH로 분획해서 BuOH 분획을 얻었다.

EtOAc 분획 22 g을 실리카겔 20 g과 혼합하고 이를 농축해서 분말로 한 후 이를 실리카겔 칼럼(Merck, No. 9385)에 가해서 EtOAc, 물포화 EtOAc-EtOAc(=1:1), 물포화 EtOAc, 물포화 EtOAc-MeOH(=100:3), 물포화 EtOAc-MeOH(=20:1)의 순서로 용출시킨후 TLC를 실시해서 E01~E11의 11개의 분획을 얻었다.

BuOH 분획 66 g도 마찬가지로 실리카겔 80 g과 혼합한 후 칼럼에 걸어 물포화 EtOAc, 물포화 EtOAc-MeOH(=100:3), 물포화 EtOAc-MeOH(=20:1), 물포화 EtOAc-MeOH(=15:1)로 용출시켜 B01~B12의 12개의 분획을 얻었다.

Biflavonoid의 분리

Subfraction E01~E05을 실온에 방치하면 황색의 침전이 생성하므로 이를 decantation해서 약 4.4 g의 flavonoid 혼합물을 얻었다.

이를 다시 SiO_2 칼럼에 걸어 CHCl_3 -MeOH(0%~10%)로 용출시켜 다음과 같은 5개의 화합물을 얻었다.

1. Sciadopitysin(1)—상기 칼럼에서 1% CHCl_3 -MeOH로 용출시킨 분획을 CHCl_3 -MeOH로 재결정해서 황색분말을 얻었다(390 mg).

Mp 293~4°; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400 (OH), 1660 (conjugated C=O), 1605, 1580, 1510(aromatic

C=C), 1500, 1430, 1370, 1263, 1443, 1180, 1027, 830; UV λ_{max} nm(log ϵ) in MeOH 272(4.69), 329 (4.66); in NaOAc 273(4.67), 285(4.68), 316(sh, 4.59), 344(4.57); in NaOMe 274 (sh, 4.84), 285(4.91), 359(sh, 4.60); in AlCl_3 262 (sh, 4.50), 281(4.64), 302(4.56), 347(4.65), 385(4.50); in AlCl_3+HCl 262(sh, 4.46), 283(4.64), 301(4.60), 343(4.66), 383(4.44); in NaOAc+ H_3BO_3 273(4.67), 326(4.64); MS (30eV), m/z (rel. int.) 580(M^+ , 100), 579(M-H, 64.3), 565(M- CH_3 , 4.2), 552(M-CO, 4.6), 551(M-CHO, 14.8), 550(M-2 CH_3 , 4.4), 549(M-O CH_3 , 9.8), 547[M-($\text{CH}_3+\text{H}_2\text{O}$), 5.3], 537[M-(CO+ CH_3), 2.2], 534[M-(O CH_3 + CH_3), 2.6], 519[M-(O CH_3 +2 CH_3), 3.9], 297(1.5), 290(M^{++} , 9.0), 167[(A_1+H) $^+$, 6.8], 166 (A_1^+ , 1.2), 135(7.4), 132(1.6); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table I.

2. Ginkgetin(2)—3% CHCl_3 -MeOH로 용출시킨 분획을 MeOH로 재결정해서 황색분말을 얻었다(약 60 mg).

Mp 230~3°; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3100~3400(OH), 1664(conjugated C=O), 1610, 1585, 1502, 1446(C=C), 1370, 1350, 1280, 1245, 1162, 1028, 840; UV λ_{max} nm(log ϵ) in MeOH 271(4.59), 331(4.56); in CH_3ONa 271(sh, 4.55), 283 (4.61), 328(4.47), 394(4.46); in NaOAc 271 (4.56), 281(4.54), 323(sh, 4.48), 341(4.50), 395 (sh, 4.23); in NaOAc+ H_3BO_3 271(4.58), 330(4.55); in AlCl_3 280(4.55), 301(4.47), 349(4.55), 388(4.43); in AlCl_3+HCl 282(4.5), 301(4.45), 345(4.55), 383(4.36); MS(30eV), m/z (rel. int.) 566(M^+ , 100), 565(M-H, 8.8), 551(M- CH_3 , 2.4), 549(5.1), 538(M-CO, 1.8), 537(M-CHO, 4.3), 536(M-2 CH_3 , 4.7), 535 (M-O CH_3 , 13.3), 523[M-(CO+ CH_3), 2.1], 297(B/D ring, 0.6), 283(M^{++} , 5.8), 269(13.0), 167[(A_1+H) $^+$, 8.8], 166(A_1^+ , 1.4), 121 (E ring, 8.7); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table I.

3. Isoginkgetin(3)—3% CHCl_3 -MeOH로 용출시킨 분획을 MeOH로 재결정해서 미황색 분말

을 얻었다(120 mg).

Mp 209~210°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3100~3400(OH), 1660(conjugated C=O), 1611, 1580, 1502, 1430, 1357, 1265, 1245, 1185, 1160, 1032, 835; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 272(4.55), 328(4.49); in CH_3ONa 279(4.64), 303(sh, 4.51), 371(4.35); in NaOAc 279(4.64), 303(sh, 4.50), 365(4.34); in NaOAc+ H_3BO_3 273(4.54), 323(4.46); in AlCl_3 280(4.49), 302(4.42), 346(4.49) 388(4.34); in AlCl_3+HCl 284(4.49), 300(4.44), 343(4.49), 383(4.27); MS(30eV), m/z (rel. int.) 566(M^+ , 100), 565(M-H, 51.6), 549(3.3), 538(M-CO, 4.9), 537(M-CHO, 17.6), 535(M-OCH₃, 6), 366(10.2), 321(11.5), 286(11.8), 283(M^{++} , 11.8), 277(12.6), 153 [(A₁+H)⁺, 7.1], 152(A₁⁺, 4.4), 135(E ring, 8.0); ¹H-NMR(DMSO-d₆): see Table I.

4. Bilobetin (4)—5% CHCl_3 -MeOH로 용출시킨 분획을 MeOH로 재결정을 반복해서 미황색 분말을 얻었다(40 mg).

Mp 239~240°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3100~3400(OH), 1660(conjugated C=O), 1610, 1580, 1504, 1446, 1430, 1360, 1280, 1245, 1167, 1115, 1035, 840; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 271(4.71), 331(4.66); in CH_3ONa 278(4.79), 305(sh, 4.58), 388(4.66); in NaOAc 278(4.78), 307(sh, 4.63), 385(4.56); in NaOAc+ H_3BO_3 272(4.71), 330(4.63); in AlCl_3 280(4.65), 301(4.56), 349(4.66), 388(4.54); in AlCl_3+HCl 283(4.63), 301(4.58), 347(4.66), 388(4.45); MS(30eV), m/z (rel. int.) 552(M^+ , 100), 551(M-H, 6.7), 534(M-H₂O, 4.6), 522(M-CO, 4.2), 521(M-CHO, 11.7), 321(19.7), 311(12.1), 297(B/D ring, 5.4), 293(13), 286(18.8), 279(21.8), 277(30.1), 276(M^{++} , 11.3), 262(26.8), 256(44.4), 228(56.1), 221(25.1), 213(62.8); ¹H-NMR(DMSO-d₆): see Table I.

5. Amentoflavone(5)—6% CHCl_3 -MeOH로 용출시킨 분획을 MeOH로 재결정을 반복해서 황색분말을 얻었다(25 mg).

Mp 263~264°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3420(OH), 1660 (conjugated C=O), 1614, 1580, 1505, 1430,

1360, 1290, 1245, 1167, 836; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 271(4.92), 335(4.89); in CH_3ONa 276(4.98), 292(sh, 4.84), 382(4.92); in NaOAc 277(4.99), 296(sh, 4.85), 370(4.83); in NaOAc+ H_3BO_3 272(4.95), 330(4.83); in AlCl_3 262(sh, 4.75), 279(4.89), 301(sh, 4.79), 351(4.90), 387(4.83); in AlCl_3+HCl 262(sh, 4.75), 282(4.87), 301(4.82), 349(4.90), 386(sh, 4.75); ¹H-NMR(acetone-d₆): see Table I.

Flavonol Glycoside의 분리

1. Kaempferol 3-O-[6'''-O-p-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside] (6)의 분리

E06(2.7 g)을 SiO₂ 칼럼에 걸어 CHCl_3 -MeOH-H₂O(=26:14:5)로 용출시켜 E061~E069의 subfraction을 얻고, 이 가운데 E068을 다시 Sephadex LH-20 column에 걸어 MeOH로 용출시켜 약 1 g의 황색분말 6을 얻었다.

Mp 199~201°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400(OH), 1695 (ester), 1660(conjugated C=O), 1610, 1518, 1450(C=C), 1368, 1265, 1210, 1175, 1086, 1060, 1020(glycosidic C-O), 975, 832; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 268(4.66), 299(sh, 4.72), 314(4.77), 360(sh, 4.30); in CH_3ONa 275(4.71), 367(4.94); in NaOAc 275(4.77), 313(4.70), 367(4.54); in NaOAc+ H_3BO_3 269(4.67), 301(sh, 4.72), 316(4.76), 360(sh, 4.38); in AlCl_3 279(4.72), 309(4.73), 326(sh, 4.66), 401(4.39); in AlCl_3+HCl 287(4.61), 311(4.59), 356(sh, 4.40); 402(4.20), ¹H-NMR(DMSO-d₆): see Table II; ¹³C-NMR(DMSO-d₆): see Table III.

2. Kaempferol 3-O-rutinoside (7)의 분리

E08 분획을 E06과 마찬가지로 SiO₂ 칼럼을 실시하여 E081~E089의 subfraction을 얻었다. 이들 분획중 E086은 E068과 동일한 물질임을 ¹H-NMR로 확인해서 E068과 합하였다. E088을 polyamide칼럼에 걸어 MeOH로 용출시켜 먼저 용출되는 E0881 분획(100 mg)과 나중에 용출되는 분획인 E0882(약 550 mg)으로 분리하였다. E0881 분획을 MeOH로 정제해서 황색 침상 결정 7을 얻었다.

Mp 188~189°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3410(OH), 1664 (conjugated C=O), 1611, 1559, 1512, 1500, 1446, 1362, 1215, 1183, 1090, 1070, 1048, 1020, 995, 839, 810; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 267 (4.02), 301(sh, 3.78), 351(3.95); in CH_3ONa 276(4.14), 328(3.91), 402(4.18); in NaOAc 275(4.15), 311(3.86), 388(3.99); in NaOAc+ H_3BO_3 268(4.07), 302(sh, 3.85), 356(3.99); in AlCl_3 275(4.02), 306(3.77), 355(3.88), 399 (3.92); in AlCl_3+HCl 277(3.98), 304(3.76), 353(3.89), 399(3.84); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table II, $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table III.

3. Quercetin 3-O-[6'''-O-p-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside](8)의 분리

5.2에서 얻은 E0882 분획을 MeOH로 정제 해서 황색분말의 8을 얻었다.

Mp 203~205°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400(OH), 1695 (ester), 1661(conjugated C=O), 1612, 1520, 1450, 1365, 1310, 1267, 1207, 1174, 1089, 1060, 1010, 960, 840; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 258(sh, 4.54), 267(4.55), 302(4.59), 317(4.64), 357(sh, 4.36); in CH_3ONa 273 (4.67), 366(4.81); in NaOAc 275(4.67), 317 (4.62), 372(4.52); in NaOAc+ H_3BO_3 263 (4.66), 317(4.62), 367(4.46); in AlCl_3 278 (4.71), 311(4.58), 439(4.52); in AlCl_3+HCl 280(4.62), 313(4.56), 401(4.27); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table II; $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table III.

4. Isorhamnetin 3-O-rutinoside (9)의 분리

E09 분획을 E06과 동일한 방법으로 칼람을 실시하여 E091~E0910의 subfraction을 얻었다. E0910은 8과 동일하였다. E097 및 E098은 동일 하였으므로 합해서 MeOH로 재결정 해서 약 30 mg의 황색분말인 isorhamnetin 3-O-rutinoside(9)을 얻었다.

Mp 187~189°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400(OH), 1660 (conjugated C=O), 1609, 1555, 1507, 1456(C=C), 1435, 1360, 1296, 1210, 1060, 1034, 1020 (glycosidic C—O), 985, 837, 807; UV λ_{\max} nm

(log ϵ) in MeOH 258(4.49), 270(sh, 4.47), 305 (sh, 4.18), 356(4.43); in CH_3ONa 274(4.63), 331(4.40), 413(4.65); in NaOAc 274(4.56), 325(4.21), 409(4.52); in NaOAc+ H_3BO_3 257 (4.50), 270(sh, 4.45), 306(sh, 4.17), 362 (4.44); in AlCl_3 270(4.52), 303(4.09), 370 (sh, 4.33), 406(4.42); in AlCl_3+HCl 271 (4.46), 307(sh, 4.07), 370(sh, 4.33), 405 (4.36); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table II; $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table III.

5. Rutin (10)의 분리

B07을 MeOH로 재결정을 반복해서 황색 침상 결정인 rutin(10)를 얻었다.

Mp 189~192°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3420(OH), 1660 (conjugated C=O), 1604, 1506, 1460, 1062, 1042, 1014, 806; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 258(4.51), 267(sh, 4.46), 306(sh, 4.14), 386 (4.44); in CH_3ONa 273(4.59), 330(4.18), 411 (4.59); in NaOAc 274(4.54), 326(4.23), 379 (4.37); in NaOAc+ H_3BO_3 262(4.59), 297 (4.05), 380(4.48); in AlCl_3 276(4.59), 305 (sh, 4.04), 339(3.88), 434(4.58); in AlCl_3+HCl 275(4.52), 300(4.11), 365(sh, 4.31), 404 (4.39); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): see Table II.

6. Laricitrin 3-O-rutinoside (11)의 분리

B08 분획을 SiO_2 칼람에 걸어 CHCl_3 -MeOH- H_2O (=26:14:5)로 용출시켜 B081~B091의 subfraction을 얻고 이중 B089를 MeOH로 재결정 해서 황색분말의 laricitrin 3-O-rutinoside(11)을 얻었다.

Mp 189~191°; IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400(OH), 1660 (conjugated C=O), 1611, 1575, 1505(C=C), 1465, 1380, 1315, 1210, 1170, 1135, 1090, 1070, 1035(glycosidic C—O), 990, 837, 811; UV λ_{\max} nm(log ϵ) in MeOH 257(4.21), 265 (sh, 4.20), 303(sh, 3.89), 363(4.25); in CH_3ONa 269(4.32), 327(3.91), 427(4.36); in NaOAc 276(4.31), 326(3.99), 405(4.20); in NaOAc+ H_3BO_3 261(4.29), 306(3.79), 387 (4.32); in AlCl_3 275(4.30), 309(sh, 3.67), 441(4.37); in AlCl_3+HCl 276(4.21), 311 (3.77), 370(sh, 4.06), 408(4.15); $^1\text{H-NMR}$

(DMSO- d_6) : see Table II; ^{13}C -NMR(DMSO- d_6) : see Table III.

7. Kaempferol 3-O-[2'', 6''- α -L-dirhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside](12)의 분리

B10(1.3 g) 분획을 SiO_2 칼럼에 걸쳐 CHCl_3 -MeOH- H_2O (=26 : 14 : 5)로 용출시켜 얻은 B103 분획을 MeOH에 용해시켜 polyamide column에 걸고 MeOH로 용출시켜 얻은 물질을 MeOH로 재결정해서 황색 침상 결정인 kaempferol 3-O-[2'', 6''- α -L-dirhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside](12) 110 mg을 얻었다.

Mp 207~210°; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400(OH), 1668 (conjugated C=O), 1615, 1514, 1505, 1450(C=C), 1360, 1214, 1180, 1140, 1100~1000(glycosidic C-O), 980, 910, 890, 838, 810; UV λ_{max} nm(log ϵ) in MeOH 267(4.33), 297(sh, 4.07), 349(4.21); in CH_3ONa 275(4.40), 325(4.13), 394(4.42); in NaOAc 274(4.42), 302(4.10), 368(4.18); in NaOAc+ H_3BO_3 268(4.33), 353(4.22); in AlCl_3 277(4.31), 308(4.02), 357(4.17), 401(4.19); in AlCl_3 +HCl 277(4.28), 305(4.01), 352(4.17), 399(4.10); ^1H -NMR(DMSO- d_6) : see Table II; ^{13}C -NMR(DMSO- d_6) : see Table III.

화합물 6~12의 산가수분해

화합물 6~12(약 10 mg)을 각각 60% dioxane 용액 30 ml에 용해시킨 후 c-HCl 5ml씩 가하여 3시간 수욕상에서 가열하였다. 반응액을 통상적인 방법으로 처리한 후, 화합물 6~12의 수층으로부터 rhamnose 및 glucose를 확인하였다. 또한 화합물 6, 7 및 12로부터 kaempferol을, 8 및 10으로부터 quercetin을 9로부터 isorhamnetin을, 11로부터 laricitrin을 각각 얻고 이들을 각각 표준품과 직접적으로 대조하여 확인하였다. 화합물 6 및 8로부터 *p*-coumaric acid를 확인하였다.

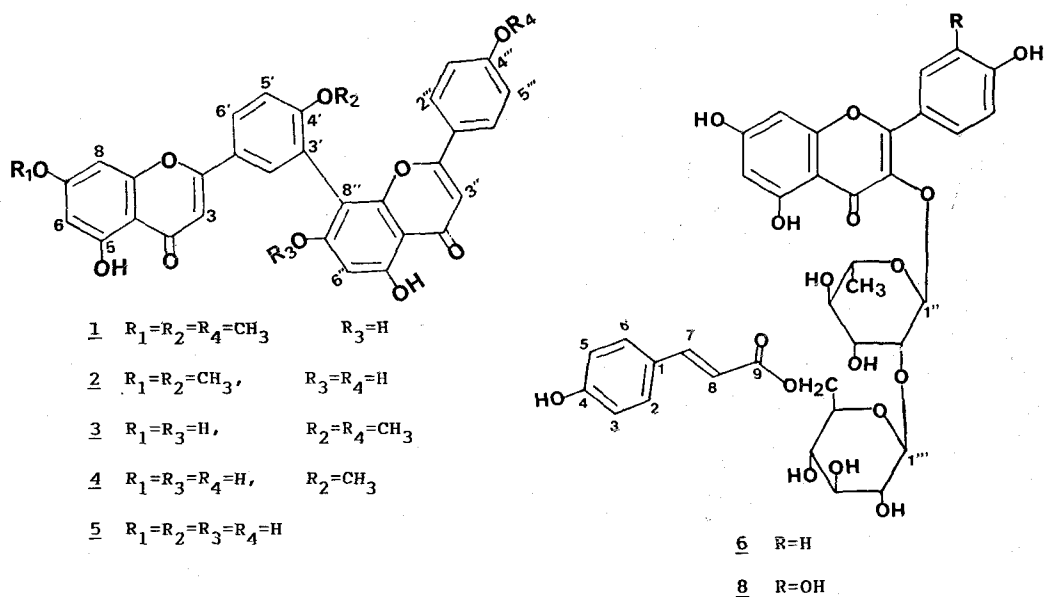
실험 결과 및 고찰

은행잎에서 지금까지 약 20여종 이상의 화합물의 구조가 밝혀진 flavonoid는 예비실험 결과 EtOAc 및 BuOH 분획의 주성분임을 알았으므로

이들 두 분획을 각각 통상적인 방법으로 칼럼 크로마토그래피를 실시한 후 이들 칼럼에서 용출된 분획에 대하여 TLC를 실시하여 EtOAc 분획으로부터 11개의 subfraction을 얻었으며, BuOH 분획으로부터는 12개의 subfraction을 얻었다. EtOAc 분획으로부터 얻은 subfraction을 실온에 방치하면 E01~E05 분획에서 황색의 침전이 생성되므로 이를 decantation하여 침전과 모액으로 분리시킨 후 이 침전을 다시 크로마토그래피를 실시해서 5종의 flavonoid(1~5)를 얻었다. 이들 화합물들은 Table IV에서 보는 바와 같이 모두 2mole의 flavone 유도체가 B ring의 C-3'와 D ring의 C-8''가 직접 결합된 biflavone계의 화합물들이며, 이들 화합물들의 이화학적 성질 및 spectral data를 종합하고, 이들 data를 문헌치들과 비교해서 화합물 1은 sciadopitysin,²⁴⁾ 2는 ginkgetin,⁷⁾ 3은 isoginkgetin,²⁴⁾ 4는 bilobetin,⁸⁾ 5는 amentoflavone⁹⁾으로 결정하였다. 이들 화합물외에 5'-methoxybilobetin이 은행잎으로부터 보고되었으나⁸⁾, 본 실험에서는 분리하지 못하였다.

한편 화합물 6~12는 모두 flavonol glycoside임을 정색반응, UV 및 IR spectral data를 종합하여 추정할 수 있으며 이중 화합물 6 및 8은 IR spectrum에서 모두 1695 cm^{-1} 에서 강한 흡수 band가 나타나므로 ester 결합이 존재함을 추정할 수 있었다. 이와 같은 추정은 이들 화합물들을 산가수분해 시키면 aglycone으로써 6, 7 및 12로부터는 kaempferol을, 8 및 10으로부터는 quercetin을, 9로부터는 isorhamnetin을, 11로부터는 laricitrin을 각각 확인할 수 있으며, 당은 모든 화합물이 다 glucose 및 rhamnose가 확인되므로 이를 증명할 수 있었다. 또한 화합물 6 및 8은 이외에도 *p*-coumaric acid를 확인할 수 있었으므로 acylated flavonol glycoside임을 증명할 수 있었다.

이상의 실험결과와 Table II에서 볼 수 있는 바와 같이 이들 화합물들의 ^1H -NMR spectrum을 해석해서 당은 모두 aglycone의 3번 OH와 glycosidic bond를 형성하고 있으며 화합물 6 및 8은 제외하고는 모두 glucose가 aglycone에 직접 결합되어 있음을 알았고, 이들 당의 anomeric proton의 coupling constant 값으로부터 glucose는 β 결

Table I. 1H -NMR spectral data for biflavones 1~5 in DMSO- d_6

Proton	1	2	3	4	5*
H-3	6.86 ^a s	6.79 ^a s	6.88 s	6.92 s	6.73 s
H-6	6.34 d (2.1)	6.37 d (2.3)	6.20 d (2.0)	6.20 d (1.9)	6.26 d (2.0)
H-8	6.76 d (2.1)	6.79 s	6.48 d (2.0)	6.49 d (1.9)	6.54 d (2.0)
H-2'	8.05 d (2.4)	8.10 d (1.8)	8.04 d (2.2)	8.07 d (2.0)	8.16 d (2.2)
H-5'	7.34 d (8.8)	7.37 d (8.7)	7.35 d (8.7)	7.35 d (8.8)	7.25 d (8.5)
H-6'	8.20 dd (2.4;8.8)	8.23 dd (1.8;8.7)	8.18 dd (2.2;8.7)	8.19 dd (2.0;8.8)	8.06 dd (2.2;8.5)
H-3''	6.96 ^a s	7.00 ^a s	6.88 s	6.79 s	6.66 s
H-6''	6.41 s	6.42 s	6.42 s	6.40 s	6.45 s
H-2''',6'''	7.58 d (8.8)	7.50 d (8.8)	7.61 d (8.8)	7.51 d (8.8)	7.66 d (8.9)
H-3''',5'''	6.91 d (8.8)	6.73 d (8.8)	6.93 d (8.8)	6.72 d (8.8)	6.83 d (8.9)
OCH ₃	3.74 s 3.78 s 3.81 s	3.80 s 3.84 s	3.77 s 3.80 s	3.78 s	
OH	10.75 12.87 13.01	10.24 10.75 12.91 13.08	10.76 10.76 12.90 13.04	10.25 10.78 10.78 12.92 13.09	12.93 13.10

^a Assignment in each column may be interchanged.* in acetone- d_6 .

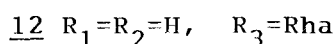
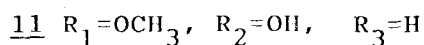
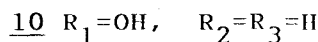
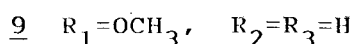
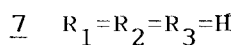
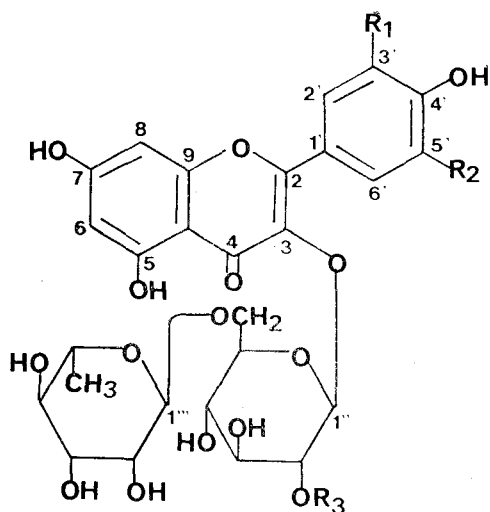


Table II. ¹H-NMR chemical shifts for flavonol glycosides 6~12 in DMSO-d₆

Proton	6	7	8	9	10	11	12
H-6	6.17 d (1.9)	6.19 d (1.7)	6.15 d (1.9)	6.18 d (1.7)	6.19 d (1.6)	6.17 d (1.9)	6.19 d (1.8)
H-8	6.31 d (1.9)	6.40 d (1.7)	6.30 d (1.9)	6.40 d (1.7)	6.38 d (1.6)	6.37 d (1.9)	6.38 d (1.8)
H-2'			7.34 s	7.82 d (1.8)	7.50 d (2.0)	7.47 d (1.7)	
	7.74 d (8.6)	7.97 d (8.7)					7.93 d (8.6)
H-6'			7.27 dd (1.7, 8.2)	7.51 dd (1.8, 8.4)	7.55 dd (2.0, 8.9)	7.11 d (1.7)	
H-3'			—	—	—	—	
	6.91 d (8.6)	6.86 d (8.7)					6.86 d (8.6)
H-5'			6.86 d (8.2)	6.89 d (8.4)	6.84 d (8.9)	—	
Rha-CH ₃	0.88 d (5.1)	0.97 d (4.9)	0.90 d (5.8)	0.65 d (4.7)	0.99 d (5.1)	0.96 d (5.5)	0.80 d (5.9) 0.94 d (4.9)
Rha-1	5.63 s	4.36 br s	5.52 s	4.39 br s	4.39 br s	4.41 br s	4.32 br s 5.05 br s
Glc-1	4.29 d (7.0)	5.30 d (7.2)	4.29 d (6.5)	5.41 d (6.1)	5.34 d (6.9)	5.45 d (6.1)	5.49 d (7.0)
5-OH	12.55	12.53	12.59	12.53	12.56	12.56	12.62
OCH ₃	—	—	—	3.82 s	—	3.80 s	—
<i>p</i> -coumaroyl	6.17 d (16.0)		6.20 d (16.1)				
	6.69 d (8.4)		6.68 d (8.4)				
	7.37 d (8.4)		7.39 d (8.4)				
	7.45 d (16.0)		7.44 d (16.1)				

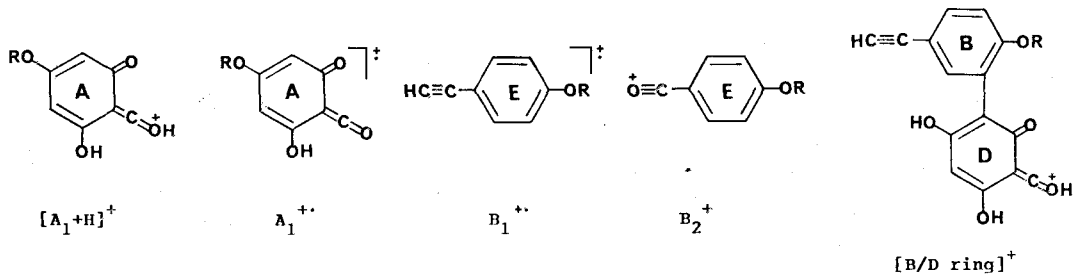
Table III. ¹³C-NMR chemical shifts for flavonol glycosides 6~12 in DMSO-d₆

Carbon	6	7	8	9	10 ²⁶⁾	11	12
2	156.6	156.8	156.8 ^a	156.4	156.6	156.6	157.0 ^a
3	134.7	133.2	134.7	133.0	133.6	133.6	132.8
4	177.8	177.3	177.9	177.3	177.4	177.6	177.5
5	161.5	161.2	161.6	161.2	161.2	161.5	161.5
6	98.8	98.7	98.8	98.7	98.8	98.7	98.9 ^b
7	164.4	164.1	164.4	164.1	163.9	164.3	164.5
8	93.9	93.8	93.9	93.7	93.6	93.8	93.9
9	156.6	156.8	156.6 ^a	156.4	156.4	156.6	156.7 ^a
10	106.0	104.0	106.0	104.0	104.2	104.3	104.2
1'	120.6	120.9	121.1	121.0	121.6	120.3	121.3
2'	130.6	130.8	115.8 ^b	113.3	115.3	106.0	130.8
3'	115.6	115.1	145.4	149.4	144.6	147.9	115.3
4'	159.9	159.8	148.8	146.9	148.3	133.7	160.0
5'	115.6	115.1	115.9 ^b	115.2	116.5	145.5	115.3
6'	130.6	130.8	120.9	122.2	121.6	109.9	130.8
OCH ₃				55.6		56.3	
1''	100.8	101.3	100.8	101.2	101.5	101.3	99.1 ^b
2''	81.7	74.3	81.8	74.1	74.2	74.5	77.9
3''	70.4 ^a	76.3	70.5	76.3	76.8	76.8	77.4
4''	72.1	70.6	72.1	70.6	70.8	70.9	70.9 ^c
5''	70.1 ^a	75.9	70.0	75.7	76.1	76.1	75.9
6''	17.5	66.9	17.6	66.8	67.1	67.2	67.1
1'''	104.3	100.7	104.3	100.8	100.7	101.0	100.9
2'''	73.9	69.9 ^a	74.0	70.2 ^a	70.4	70.6	70.6 ^c
3'''	76.4	70.1 ^a	76.3	70.3 ^a	70.4	70.6	70.9 ^c
4'''	70.6 ^a	71.8	70.5	71.8	72.2	72.2	72.2
5'''	73.9	68.2	74.0	68.2	68.2	68.4	68.4
6'''	63.2	17.7	63.2	17.7	17.5	17.8	17.5
1''''							100.8
2''''							70.6 ^c
3''''							70.9 ^c
4''''							72.2
5''''							68.4
6''''							17.8
<i>p</i> -coumaroyl							
1	125.2		125.3				
2	130.1		130.1				
3	115.8		115.9				
4	160.2		159.9				
5	115.8		115.9				
6	130.1		130.1				
7	144.8		144.8				
8	114.1		114.2				
9	166.5		166.5				

^{a, b, c} Assignments in each column may be interchanged.

Table IV. Mass fragments of biflavonoids (1~5) isolated from *Ginkgo biloba*

Compound	$[M]^+$	$[M-H]^+$	$M^{\#}$	$[A_1+H]^+$	A_1^{++}	B_1^{++}	B_2^+	$[B/D \text{ ring}]^+$
Sciadopitysin(1)	580 (100%)	579 (64.3)	290 (9.0)	167 (6.8)	166 (1.2)	132 (1.6)	135 (7.4)	283 (1.5)
Ginkgetin(2)	566 (100)	565 (8.8)	283 (5.8)	167 (8.8)	166 (1.4)	118 (0.5)	121 (8.7)	283 (5.8)
Isoginkgetin(3)	566 (100)	565 (51.6)	283 (11.8)	153 (7.1)	152 (4.4)	132 (4.7)	135 (8.0)	283 (11.8)
Bilobetin(4)	552 (100)	551 (6.7)	276 (11.3)	153 (18.8)	152 (13.8)	118 (10.5)	121 (17.6)	283 (13.0)
Amentoflavone(5)	—	—	269 (0.4)	153 (4.0)	152 (2.2)	—	121 (0.4)	269 (0.4)



합, rhamnose는 α 결합을 하고 있음을 알았다. 또한 화합물 12는 2 mole의 rhamnose가 존재함을 알았다. 이와 반대로 acylated flavonol glycoside인 6 및 8은 rhamnose가 aglycone의 3번 OH와 glycosidic bond를 형성하고 있음을 알았다.

Interglycosidic linkage를 결정하기 위해서 이들 화합물의 ^{13}C -NMR spectrum을 측정하고 model compound들과 이미 보고된 ^{13}C -NMR spectral data, glycosidation shift rule 및 acylation shift rule 등을 적용해서 Table III과 같이 assignment를 하였다. 화합물 10은 rutin임을 표준품²⁵⁾과 직접적으로 대조하여 이를 확인하였으며, 화합물 7, 9 및 11의 당부분의 ^{13}C -NMR chemical shift는 rutin(10)의 chemical shift와 완전히 일치하므로 모두 rutinose임을 확인할 수 있었다. 또한 acylated flavonol glucorhamnoside인 6 및 8은 rhamnose의 anomeric carbon 및 C-2 carbon의 chemical shift가 model compound인 quercetin 3-O- α -rhamnoside²⁶⁾보다 1.4 ppm upfield 및 10.9 ppm downfield shift되어 있으므로 glucose가 rhamnose의 C-2 OH에 결합되어 있음을 알았으며 *p*-coumaric acid는 glucose의 C-6 위치에 결합되어 있음을 알았다. 즉 화합물 6의 화학구조

는 kaempferol 3-O-[6'''-*p*-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside]로 결정할 수 있으며 8은 quercetin 3-O-[6'''-*p*-coumaroyl- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranoside]로 결정하였다. 또한 화합물 12는 2 mole의 methyl rhamnoside에 해당되는 signal이 나타나므로 2 mole의 rhamnose는 glucose와 branched chain으로 결합되어 있으며, glucose의 C-1의 chemical shift가 upfield shift되어 있고, C-2 및 C-6의 chemical shift가 downfield shift되어 있으므로 rhamnose가 glucose의 C-2 및 C-6에 각각 결합되어 있음을 알았다. 따라서 화합물 12의 화학구조는 kaempferol 3-O-(2'', 6''- α -L-dirhamnopyranosyl- β -D-glucopyranoside)로 결정하였다.

화합물 6 및 8은 은행잎의 flavonol glycoside 중 가장 많이 함유되어 있는 주성분이며 분리된 flavonol rhamnoglucoside들은 모두 rutinose인 것이 흥미롭다. 화합물 11은 은행나무의 낙엽으로부터 분리 보고된 바 있으며²⁾, dirhamnosyl glucoside인 12는 1989년도에 처음으로 은행잎으로부터 분리된¹⁹⁾ 화합물이다.

<1990년 4월 9일 접수 : 5월 7일 수리>

문헌

1. Major, R.T.: *Science* 157, 1270 (1967).
2. Geiger, H.: *Z. Naturforsch.* 34C, 878 (1979).
3. Nasr, C., Haag-Berrurier, M., Lobstein-Guth, A. and Anton, R.: *Phytochem.* 25, 770 (1986).
4. Nasr, C., Lobstein-Guth, A., Haag-Berrurier, M. and Anton, R.: *Phytochem.* 26, 2869 (1987).
5. Matsumoto, T. and Sei, T.: *Agric. Biol. Chem.* 51, 249 (1987).
6. Victoire, C., Haag-Berrurier, M., Lobstein-Guth, A., Balz, J.P., and Anton, R.: *Planta Med.* 54, 245 (1988).
7. Miura, H., Kihara, T. and Kawano, N.: *Chem. Pharm. Bull.* 17, 150 (1969).
8. Joly, M., Haag-Berrurier, M. and Anton, R.: *Phytochem.* 19, 1999 (1980).
9. Lobstein-Guth, A., Briancon-Scheid, F., Victoire, C., Haag-Berrurier, M. and Anton, R.: *Planta Med.* 54, 555 (1988).
10. Okabe, K., Yamada, K., Yammura, S. and Tanaka, S.: *J. Chem. Soc.* 2201 (1967).
11. Weinges, K., Hepp, M. and Jaggy, H.: *Liebigs Ann. Chem.* 521 (1987).
12. Weinges, K. and Bähr, W.: *Liebigs Ann. Chem.* 759, 158 (1972).
13. Ibata, K., Mizuno, M., Takigawa, T. and Tanaka, Y.: *Biochem. J.* 213, 305 (1983).
14. Hoellriegl, H., Koehler, H. and Franz, G.: *Sci. Pharm.* 54, 321 (1986).
15. Braquet, P.: *Drugs of the Future* 12, 643 (1987).
16. Hosford, D., Mencia-Huerta, J.-M., Page, C. and Braquet, P.: *Phytotherapy Res.* 2, 1 (1988).
17. Agnoli, A., Rapin, J.R., Scapagnini, V. and Weitbrecht, W.V.: Effects of *Ginkgo biloba* Extract on Organic Cerebral Impairment: Proceedings of the International Symposium, John Libbey & Company Ltd., London, pp.1-106 (1984).
18. Vanhaelen, M. and Vanhaelen-Fastre, R.: *J. Liq. Chromatogr.* 11, 2969 (1988).
19. Vanhaelen, M. and Vanhaelen-Fastre, R.: *Planta Med.* 55, 202 (1989).
20. Otamiri, T. and Tagesson, C.: *Scand. J. Gastroenterol.* 24, 666 (1989).
21. Duche, J.C., Barre, J., Guinot, P., Duchier, J., Cournot, A. and Tillement, J.P.: *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 9, 165 (1989).
22. Attella, M.J., Hoffman, S.W., Stasio, M.J. and Stein, D.G.: *Exp. Neurol.* 105, 62 (1989).
23. Pincemail, J., Dupuis, M., Nasr, C., Hans, P., Haag-Berrurier, M. Anton, R. and Deby, C.: *Experientia* 45, 708 (1989).
24. Okuyama, T., Ohta, Y. and Shibata, S.: *Shoyakugaku Zasshi* 33, 185 (1979).
25. Kang, S.S., Cordell, G.A., Soejarto, D.D. and Fong, H.H.S.: *J. Nat. Prod.* 48, 155 (1985).
26. Markham, K.R. and Chari, V.M.: The Flavonoids, Advances in Research, Chapman & Hall Ltd., London, p.51 (1982).