

한국산 배(*Pyrus pyrifolia* Nakai)로부터 polyphenol 화합물의 구조결정

張云彬¹ · 최희진 · 한호석 · 박정혜 · 손준호 · 배중호² · 성태수³ · 안봉전⁴ · 김현구⁵ · 최 청*

영남대학교 생물산업공학부, ¹중국 상하이대학교 식품공학연구소

²대구 미래대학 제과 데코레이션과, ³창원전문대학 식품영양과

⁴경산대학교 생명자원공학부, ⁵한국식품개발연구원

Chemical Structure of Polyphenol Isolated from Korean Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai)

Yun-Bin Zhang¹, Hee-Jin Choi, Ho-Suk Han, Jung-Hye Park, Jun-Ho Son, Jong-Ho Bae²,
Tae-Su Seung³, Bong-Jeun An⁴, Hyun-Gu Kim⁵ and Cheong Choi*

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University

¹Institute of Food Science and Technology, University of Shanghai, China

²Department of Confectionery Decoration, Daegu Mirae College

³Department of Food and Nutrition, Changwon Junior College

⁴Faculty of Life Resource and Engineering, Kyungsan University

⁵Korea Food Research Institute

The polyphenol compounds of Korean pears were extracted with 60% acetone for 4 days at room temperature and purified using Sephadex LH-20 column chromatography, MCI gel column chromatography, Bondapak C₁₈ column chromatography, TLC, and HPLC. As a result, three compounds were isolated. The chemical structures of each compound were determined and identified using NMR, FAM-mass, and FT-IR. The compounds were confirmed as (+)-catechin (compound A), (+)-gallocatechin (compound B), (-)-epigallocatechin (compound C), and procyanidin B-3-3-o-gallate (compound D).

Key words: pear, polyphenol compound, chemical structure, polyphenol

서 론

배는 배나무과속(*Pyrus*)에 속하는 낙엽교목식물로서 우리나라에는 1906년 일본에서 개량된 품종들이 도입되어 전국적으로 재배되고 있는 4대 과실 중의 하나로서 기호도가 좋아 대부분 생과로 소비되고 있다. 우리나라에서 재배되고 있는 배는 2002년도에 26.2천 ha에서 323.6천톤이 생산되어서 중생종이 87.7%로 가장 많았으며 그 중 신고 품종의 생산량은 73.2%를 차지하였다. 1966년부터 배를 가공한 음료수가 상품화되어 그 시장성을 확대해 나가고 있으며 한방에서는 변비, 이뇨, 기침 등의 치료제로 이용되고 있다⁽¹⁾. 배는 생식용으로 재배되고 배속식물은 동양계 중 남방형인 일본 배, 북방형인 중국 배 및 유럽계인 서양 배 등 3종류이다. 이와 같은 배속식물은 현 재배 종을 포함하여 30여 종이 분포하고 있으나 이들

모두 발상지는 중국의 서부와 남서부로 알려져 있다. 배는 먹을 수 있는 가식율이 80~82%, 수분함량이 85~88%이며 열량은 51 kcal이다. 배의 주성분은 탄수화물이며 당분은 10~13%로 품종에 따라 차이가 많고 단백질 함량은 0.3% 내외로서 다른 과실과 큰 차이가 없다. 지방질은 0.2%, 섬유소는 0.5%로 다른 과실에 비해 다소 적은 편이다. 그러나 배는 나트륨, 칼슘, 마그네슘, 인 등이 많아 강한 알칼리식품으로 건강에 좋은 식품으로 잘 알려져 있다⁽²⁾. 예로부터 배잎과 껍질, 과실을 민간 요법으로 사용하여 왔는데 잎은 알푸진 성분이 3% 함유되어 토사광란에 특효약으로, 껍질은 부스럼이나 피부질환에, 과일은 가래기침, 숙취, 해열, 배변, 연육 등에 쓰여져 왔었다⁽¹⁾. 배의 세포벽은 다당류인 20~30%의 셀룰로즈, 25%의 헤미셀룰로즈, 35%의 펙틴과 5~10%의 당단백질, 그리고 미량의 페놀계 물질로 구성되어 있으며, 이들이 서로 복잡하게 연결되어 있다⁽³⁾. 배에 관한 연구로는 품종별 가공에 따른 가공적성^(2,4), 리올리지 특성⁽⁵⁾, 화학성분⁽⁶⁾, polyphenol oxidase^(7,9) 및 배의 저장중의 포장재질에 따른 품질변화⁽¹⁰⁾ 등의 연구가 있다. 탄닌은 단백질과 결합 하는 특성을 가진 polyphenol을 총칭하는 것으로 분자량은 약 500 이상이며 축합형 탄닌과

*Corresponding author : Cheong Choi, Yeungnam University, 214-1 Daedong, Kyungsan 712-749, Korea
Tel: 82-53-810-2952
Fax: 82-53-815-1891
E-mail: cchoi@yumail.ac.kr

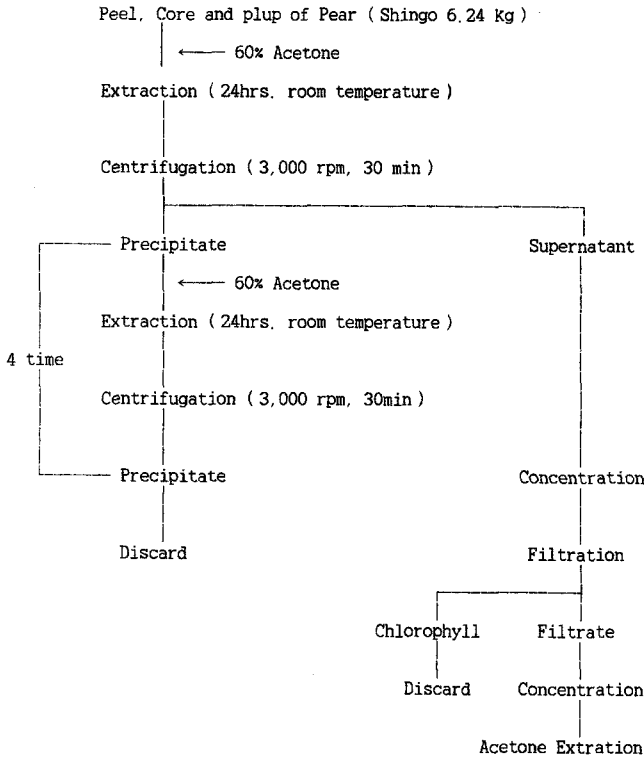


Fig. 1. A procedure for polyphenol extraction of pear.

가수분해형 탄닌으로 분류한다⁽¹¹⁾. 배의 축합형 탄닌은 flavan-3-ol을 기본 구성단위로 많은 생리활성물질이 발견되고 있어⁽³⁾ 식물체에서 분리한 polyphenol 화합물이 각종 세균, 효모의 생육억제활성 및 효소저해활성이 있음을 보고하였다^(12,13). Polyphenol 화합물이란 한 분자내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl을 가진 방향족 화합물들을 가리킨다. 천연 polyphenol 화합물은 flavonoid, lignans, lignins 그리고 탄닌들이 있다. 탄닌으로 분류되는 polyphenol로는 식물계에 다량 존재하며 친수적이고 분자량이 500~4,000 정도이다⁽¹⁴⁾. 탄닌을 다량 함유한 식물과 탄닌의 약리적인 성질에 대한 연구는 80년대에 들어서서 많은 분석방법이 개발되어 가능하게 되었다. Haslam⁽¹⁵⁾은 탄닌을 가수분해형 탄닌과 축합형 탄닌으로 분류를 하였고 이 분류에 포함하지 않는 탄닌을 신형탄닌으로 분류하고 있다^(16,17). 가수분해형 탄닌은 몇몇 쌍자엽식물에만 볼 수 있는 것으로 산과 알카리 tannase에 의해 다가 알콜과 phenol carbonic acid로 분해되는 탄닌류로서 gallotannin과 ellagitannin으로 다시 구분된다. 축합형 탄닌은 관다발식물계인 양치류식물, 나자식물, 단자엽 식물, 쌍자엽 식물에 널리 분포하며 flavan-3-ol을 기본 구성단위로 각종의 결합양식에 의해 dimer, trimer, oligomer, polymer를 형성하고 산처리를 하면 anthocyanidin류를 생성하므로 proanthocyanidin으로 불리기도 한다⁽¹⁸⁾. 이러한 성분들이 최근 새로운 기술의 발달로 인하여 축합형 탄닌⁽¹⁸⁻²⁰⁾ 뿐만 아니라 가수분해형 탄닌⁽²¹⁻²⁴⁾도 화학적 구조가 밝혀지고 있으며 이들 물질들의 생리활성에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 한국산 배를 60% acetone으로 추출하여 polyphenol 화합물의 생리적 활성효과를 체계적으로 검증하고 기초자료를 얻기 위하여 Sephadex LH-20 gel column

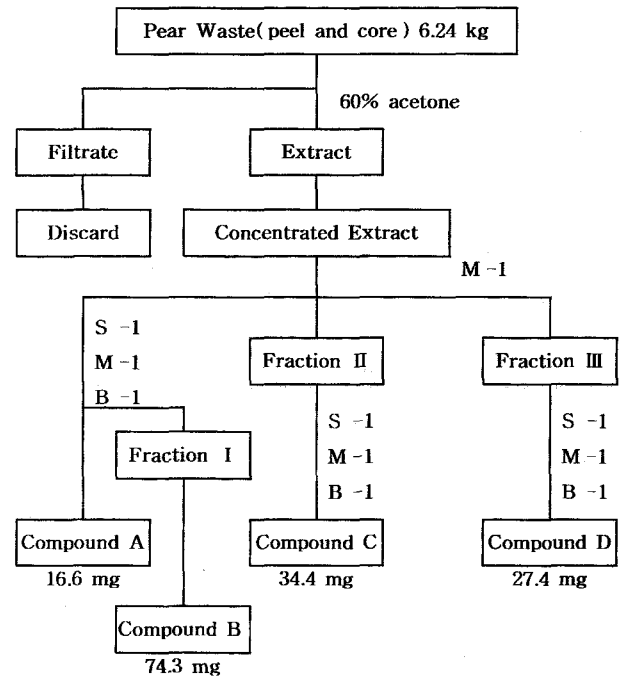


Fig. 2. The procedure for isolation of polyphenols from pear (peel and core).

S-1: Sephadex LH-20 column chromatography [methanol: water (0→1)], M-1: MCI gel CHP-20 column chromatography [methanol: water (0→1)], B-1: Bondapak C₁₈ column chromatography [methanol: water (0→1)]

chromatography, MCI-CHP 20 gel column chromatography, Bondapack C₁₈ gel column chromatography을 이용하여 TLC와 HPLC로 순도를 검증한 후 4종의 polyphenol 화합물을 분리, 정제하여 NMR, FAM-mass 및 FT-IR을 이용하여 화학구조를 결정하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 배는 나주에서 수확한 신고(*Pyrus pyrifolia* Nakai)를 2000년 11월 10일에 대구시 농협공판장에서 구입하여 공시시료로 하였다.

배의 acetone 추출

배의 과실 및 껍질 6.24 kg을 Furuichi 등⁽¹⁸⁾의 방법에 의하여 Fig. 1과 같이 60% acetone을 30 L 가하여 실온에서 24 시간, 추출을 4회 반복한 후 감압농축하여 증류수에 녹인 후 분석용 시료로 사용하였다.

Sephadex LH-20에 의한 정제

분석용 시료를 Sephadex LH-20을 충전시킨 column(8.5×120 cm)에 의하여 Fig. 2과 같이 분리하였다. 용출용매는 10% 단위별로 methanol: water(0:1→1:0)으로 용출시켜 thin layer chromatography(TLC)상에서 polyphenol 종류를 확인한 후 감압농축하였다.

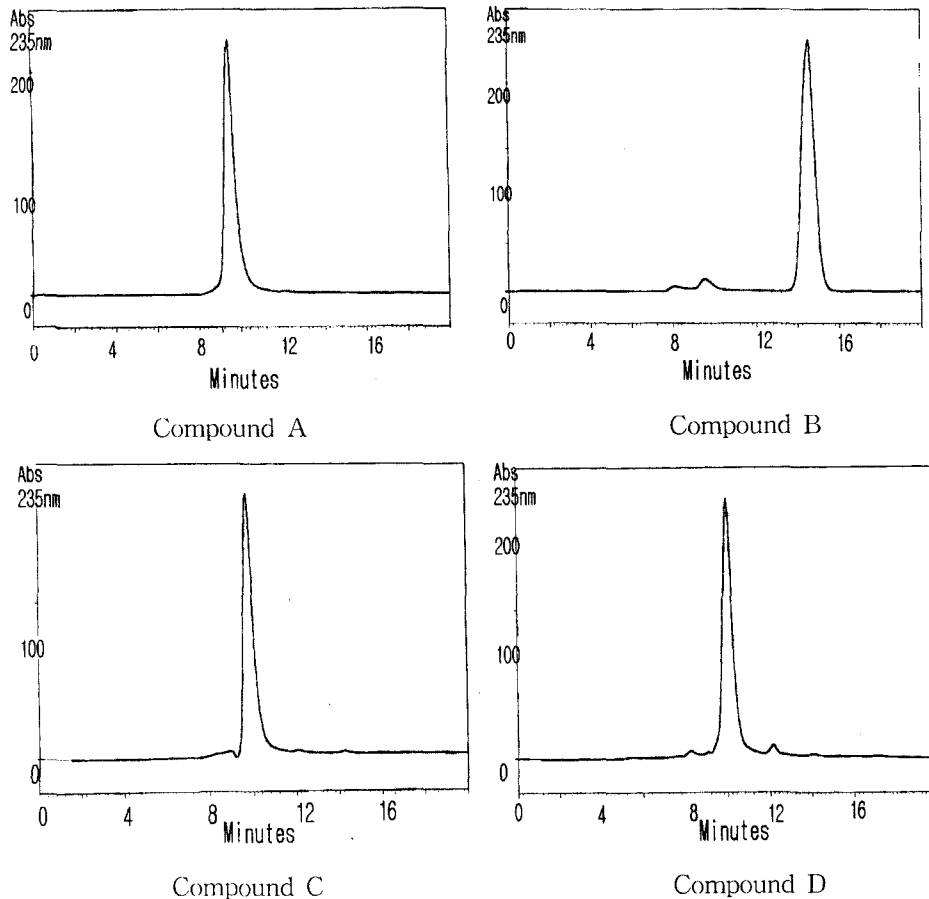


Fig. 3. HPLC patterns of compound A, B, C, and D isolated from pear. Absorbance: 235 nm

MCI gel CHP 200에 의한 정제

다공성 polystyrene gel인 MCI gel을 이용하여 용출용매를 methanol : water(0 : 1→1 : 0)으로 용출하여 TLC상에서 polyphenol 종류를 확인한 후 감압농축 하였다.

Bondapack C₁₈에 column에 의한 정제

알칼리화된 silica gel로 용출용매를 methanol : water(0 : 1→1 : 0)으로 용출 하여 TLC상에서 polyphenol 종류를 확인한 후 감압농축하였다.

Thin layerchromatography(TLC)에 의한 polyphenol 화합물의 동정

Silica gel이 coating된 plate(5.0×5.0 cm)에 spot한 후 전개 용매를 benzen : ethylformic acid : formic acid(1 : 7 : 2, V/V/V)의 용매로 전개한 후 전개정도를 자외선 UV-lamp에서 확인하였다. Silica TLC상에서 FeCl₃에 의해 청색으로, *p*-anisaldehyde/H₂SO₄에 의해 갈색으로 발색되는 물질은 축합형 탄닌으로 분류하였다.

High performance liquid chromatography(HPLC)에 의한 동정

Choi⁽²⁵⁾의 방법에 따라서 TLC상으로 polyphenol 화합물을 확인한 후 분획물의 순도를 HPLC로 검증하였다(Fig. 3). 이

때 HPLC의 분석조건은 column; shim-pack ODS(M) 300×7.80 nm, detector; 254 nm, mobile phase; CH₃CN : H₂O = 1 : 4, flow rate; 0.3 mL/min, injection volume; 20 μL였으며 HPLC Shimadzu LC-10 system을 사용하였다.

Polyphenol 화합물의 구조결정

Nuclear magnetic resonance(NMR)에 의한 구조 해석: NMR spectrum은 FT(Pulse Fourier transform) 방법을 이용하여 순수 정제물 10 mg을 DMSO에 용해시켜서 ¹H-NMR(100, 270 MHz) 측정하였다.

Mass spectrum에 의한 분자량 측정: 고체 시료 1 mg을 감압상태(10⁻⁶~10⁻⁸ mmHg)에 가열(100~300°C) 기화시켜 측정하는 FAB-mass spectrum을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mg을 acetone과 methanol에 각각 용해시켜 glycerol을 matrix로 하여 측정하였으며 이온원의 가속압을 2~3 kV, 이온화의 전압은 22~28 eV, 시료 온도는 50°C에서 질량 분석을 하였다.

Infrared spectrum(IR)에 의한 구조 해석: IR spectrum은 할로겐화 알칼리 정제법으로 하였다. 시료 1 mg을 KBr 100 mg 분말과 잘 섞어 배합하고 압력을 가해 가압정제를 만들고 표준물로서는 시료가 들어 있지 않은 KBr 분말을 가압 정제하여 사용하였다.

Table 1. Spectral properties of isolated polyphenols from pear

Polyphenols	TLC (Rf) ¹⁾		UV-VIS		
	<i>p</i> -Anisaldehyde/H ₂ SO ₄		FeCl ₃		λ _{max} (nm)
Compound A	0.88	red	0.88	blue	235
Compound B	0.89	red	0.89	blue	235
Compound C	0.71	red	0.71	blue	235
Compound D	0.48	red	0.48	blue	235

¹⁾benzene: ethyl formic acid : formic acid (1 : 7 : 2, v/v/v).

결과 및 고찰

Polyphenol 화합물의 분리

배의 과심 및 껍질 6.24 kg으로부터 acetone에 추출하여 Fig. 2에서와 같이 Sephadex LH-20 column(8.5×120 cm)에 loading 하고 10% 단위로 하여 methanol: water(0:1→1:0)을 용출용매로 하여 fraction I, II 및 III를 분획 하였다. Fraction I을 MCI-gel CHP 20과 Bondapak C₁₈에 10% 단위로 하여 methanol: water(0:1→1:0)을 용출용매로 하여 2개의 compound 물질을 분획하였다. 이 분획물은 TLC상에서는 compound A는 spot가 하부에 compound C와 D는 상부에 존재함을 볼 수 있었고 *p*-anisaldehyde-H₂SO₄와 FeCl₃용액에서 붉은색과 청색을 띄었다. 최대의 흡광도는 235 nm으로 나타났다(Table 1). 1단계로 Sephadex LH-20 column에서 용출용매 methanol: water(0:1→1:0)을 사용하여 분리 시 compound A와 compound B는 증류수 상에서 용출하였고 compound C 및 D는 40% methanol 상에서 용출하였다. 2단계에서는 MCI-gel CHP 20 column을 이용하여 compound C가 70% methanol 상에서 용출됨을 보아 compound C와 compound D는 흡착성이 강한 polyphenol 화합물이라 추정되었다.

배의 추출물을 Sephadex LH-20에 의한 분획결과 Fig. 2와 같이 F-1, F-2, F-3의 fraction 으로 분획 한 후 F-1 fraction에서 생물 A~B까지 2종류의 화합물이, F-2 fraction에서는 compound C화합물, F-3 fraction에서는 compound D 화합물을 분리하였다. 각 분획물을 HPLC에 의하여 분리한 결과는 Fig. 3과 같이 순수 분리되었다. 각 compound를 TLC상에서 확인한 결과 polyphenol화합물을 FeCl₃와 anisaldehyde 용액으로 분무시킨 결과 각각 청색과 갈색반응을 나타내었으므로 proanthocyanidin 계통으로 추정하게 되었다. Sephadex LH-20 gel에 H₂O와 methanol 혼합용액의 농도 변화를 주면서 용출한 결과 methanol 30%에서 흡착성이 약한 proanthocyanidin류가 보이기 시작하여 90% methanol에서 거의 모든 화합물이 용출 되는 것으로 확인되었다.

이러한 결과를 볼 때 compound A, B, C 및 D는 polyphenol 구조로 구성된 화합물로 추정되었다. Hashimoto 등⁽²⁶⁾의 보고에 의하며 축합형 탄닌 분리시 반응색과 분리 용출 속도에 따라서 monomer, dimer, trimer 등의 순으로 용출되며 gallate를 함유한 탄닌은 붉은색을 띤다고 하였다. Nonaka⁽²⁷⁾는 축합형탄닌 분리시 용출 속도와 용매, 발색반응에 의하여 축합형 탄닌으로 검증이 가능하다고 보고한 결과와 비슷한 결과를 얻었다.

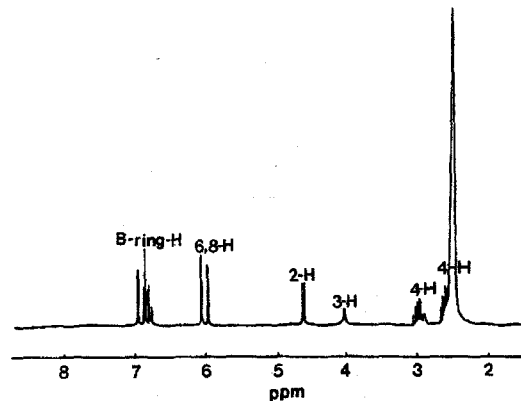


Fig. 4. PMR spectrum of compound A.

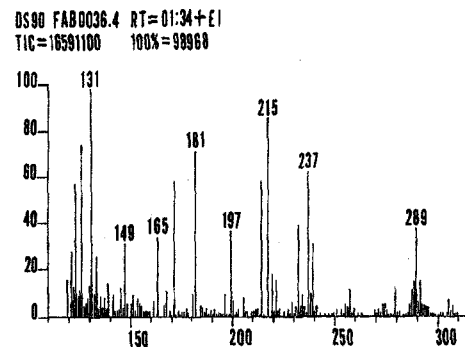


Fig. 5. Mass spectrum of compound A.

Polyphenol 화합물의 구조분석

Compound A

무색침상형

mp: 172~175°C

선광도 [α]_D²⁵: +9.4° (C=1.0, acetone)

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3340 (OH), 1620 (arom, C=C)

FAB-MS m/z: 289 [M-H]⁻ (Fig. 4)

C₁₅H₁₄O₆: C=62.06%, H=4.86%, O=33.70%

¹H-NMR δ : 2.55(1H, dd, J=16.8, Hz, 4-H), 2.91(1H, dd, J=16.6 Hz, 4-H), 4.01(1H, m, 3-H), 4.59(1H, d, J=8, Hz, 2-H), 5.95, 6.04(each 1H, d, J=2, Hz, 6,8-H), 6.75~6.94 (3H, m, B-ring H) (Fig. 5)

Compound A는 anisaldehyde 및 FeCl₃ 용액에서 각각 황색, 청색을 띄었으며 Negative FAM-MS에서 분자량이 289로 나

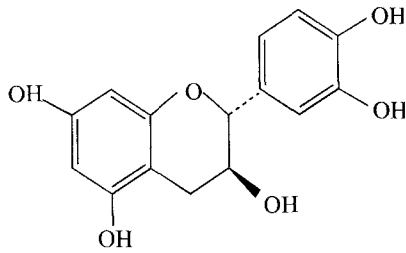


Fig. 6. Structure of compound A isolated from pear.

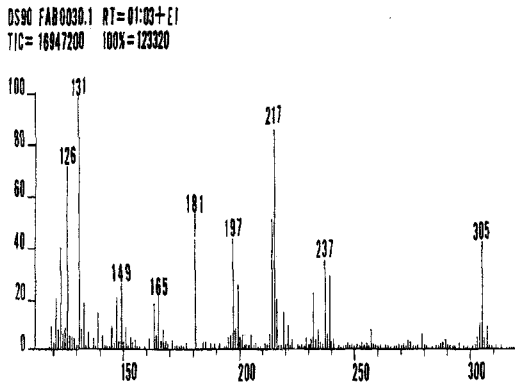


Fig. 7. Mass spectrum of compound B.

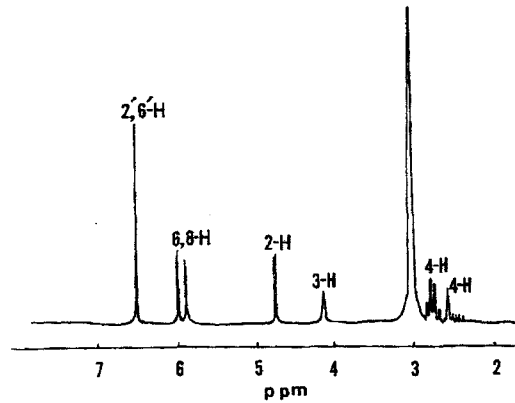


Fig. 8. PMR spectrum of compound B.

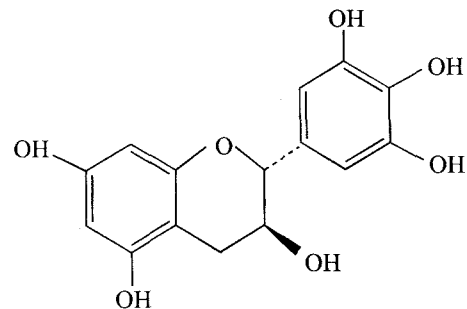


Fig. 9. Structure of compound B isolated from pear.

타났다(Fig. 5). IR spectrum에서 3440에서 OH기가 1620에서 aromatic C=C이 확인되었다. Compound A는 Fig. 4와 같이 ¹H-NMR에서 alipatic 영역에 의한 2.55 ppm(dd, J = 16, 8 Hz) 및 2.91 ppm(1H, dd, J = 16, 6 Hz) spectrum의 분열 및 배열에 의해 C-링의 4-H 위치에 1H분의 귀속이 가능하였고 4.01, 4.59 ppm의 spectrum도 분열형태로 보아 각각 C-링의 3-H, 2-H로 확인 할 수 있었다. Aromatic 영역에 의한 6.75~6.94 ppm의 spectrum 즉, 6.75 ppm(d, J = 8, Hz), 6.94 ppm(d, J = 2 Hz)의 분열양상 ABX-type를 시사 하고, 각각 catechol 환의 6'-H, 5'-H와 2-H의 signal로 추정할 수 있었으므로 (+)-catechin으로 동정하였다. 이러한 ¹H-NMR signal로 일반 catechin의 표준품과 동일하였으므로 catechin으로 확인되었다 (Fig 6).

Compound B

무색침상형

mp: 186~189°C

선광도 [α]_D²³: +2.4° (C=1.0, acetone)

FAB-MS m/z: 305 [M-H]⁻ (Fig. 7)

C₁₅H₁₄O₇: C=59.22%, H=4.88%, O=35.90%

¹H-NMR δ: 2.56(1H, dd, J = 16.8, Hz, 4-H), 2.75(1H, dd, J = 16, 6 Hz, 4-H), 4.13(1H, m, 3-H), 4.74(1H, d, J = 6 Hz, 2-H), 5.86, 5.99(each 1H, d, J = 2 Hz, 6,8-H), 6.52(2H, s, 2',6'-H) (Fig. 8)

Compound B는 Fig. 7에서와 같이 negative FAM-MS에서 305의 분자량을 얻었고 이러한 결과는 epicatechin 및 catechin에 산소 분자 1개가 더 결합한 물질임을 알 수 있었다. Compound B의 ¹H-NMR spectrum에서 2.56 ppm(dd, J = 16,

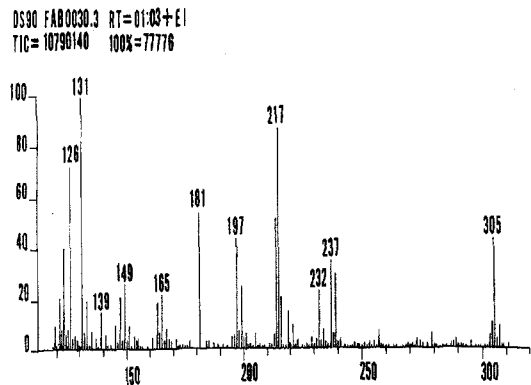


Fig. 10. Mass spectrum of compound C.

8 Hz), 2.75 ppm(dd, J = 16, 6 Hz)는 alipatic 영역의 4-H를 의미하고 4.13(m), 4.74(d, J = 6 Hz)는 catechol의 전형적인 signal로써 각각 3-H와 2-H임을 확인할 수 있었다. 또한 5.86, 5.99 ppm spectrum은 double의 분열양상으로 6,8-H임을 시사하였고 6.52 ppm의 2H분의 signal은 2',6'-H로서 (+)-gallo-catechin으로 동정하였다(Fig. 9).

Compound C

무색침상형

mp: 217~219°C

선광도 [α]_D²³: -46.8° (C=1.0, acetone)

FAB-MS m/z: 305 [M-H]⁻ (Fig. 10)

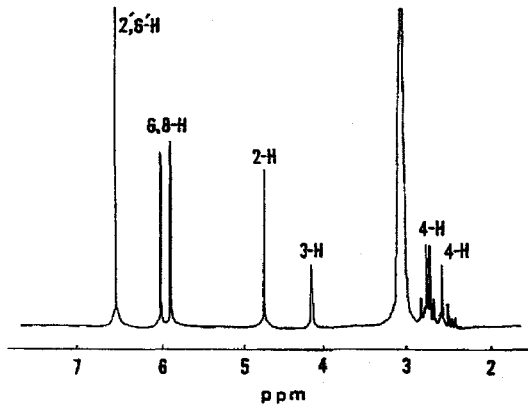


Fig. 11. PMR spectrum of compound C.

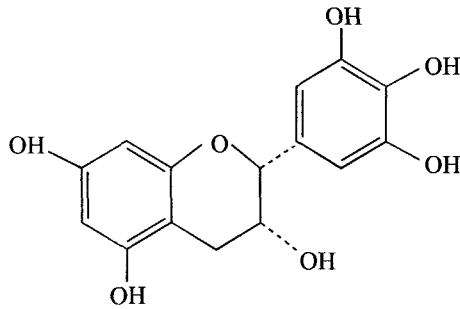


Fig. 12. Structure of compound C isolated from pear.

$C_{15}H_{14}O_7$: C=56.92%, H=5.14%, O=37.94%

1H -NMR δ : 2.56(1H, dd, $J=16, 3$ Hz, 4-H), 2.70(1H, dd, $J=16, 4$ Hz, 4-H), 4.12(1H, m, 3-H), 4.73(1H, brs, 2-H), 5.87, 5.98(each 1H, d, $J=2$ Hz, 6, 8-H), 6.51(2H, s, 2',6'-H) (Fig. 11).

Compound C는 Fig. 10에서와 같이 negative FAB-MS에서 305의 분자량을 얻었고 이는 epicatechin 및 catechin에 산소 분자 1개가 더 결합된 물질임을 알 수 있었다. 1H -NMR의 분열형태로 보아 2.56 ppm(dd, $J=16.3$, Hz), 2.70(dd, $J=16, 4$ Hz)의 4-H, 4.12 ppm(m), 4.73 ppm(brs)의 2, 3-H의 spectrum은 전형적인 (-)-epicatechin과 유사하였으나 6.51 ppm에서 singlet의 2-H의 2',6'-H로 보여 지므로 (-)-epigallocatechin으로 동정하였다(Fig. 12). 또한 compound C의 1H -NMR spectrum은 compound C-1과 일치하였으므로 (-)-epigallocatechin으로 동정되었다(Fig. 12).

Compound D

주황색의 무정형 분말

선광도 $[\alpha]_D^{21}$: -216.1° (C=0.98, acetone)

IR V_{max}^{KBr} cm^{-1} : 1710(COO), 1600(C=C)

FAB-MS m/z : 729 [M-H]⁻ (Fig. 13)

$C_{37}H_{30}O_{16}$: C=61.74%, H=4.21%, O=34.05%

1H -NMR δ : 2.55~2.57(2H, m, 4'-H), 3.25~3.76(2H, m, 3,3'-H), 4.55(1H, brs, 4-H), 4.98~5.00(2H, m, 2,2'-H), 6.24~6.48(3H in total, m, A,A'-ring H), 6.88~7.30(6H in total, m, B,B'-ring H), 7.63(2H in total, each s, G-H) (Fig. 14)

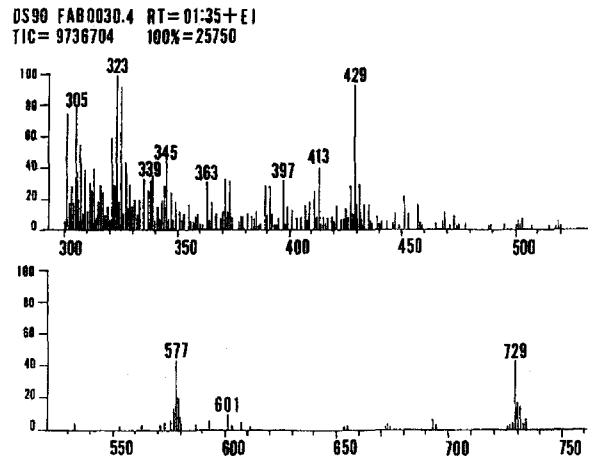


Fig. 13. Mass spectrum of compound D.

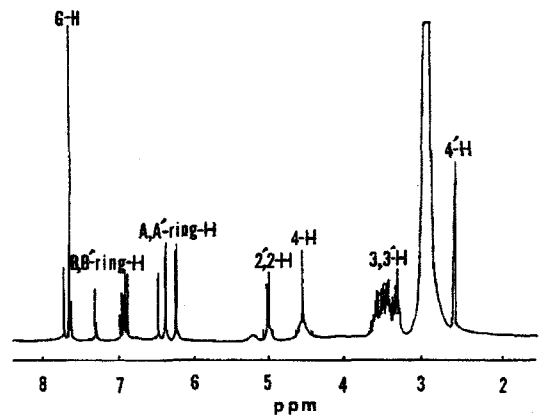


Fig. 14. PMR spectrum of compound D.

Compound D-1

염갈색 무정형 분말

선광도 $[\alpha]_D^{25}$ -198.1° (C=1.0, acetone)

1H -NMR δ : 2.54~2.96(2H, m, 4'-H), 4.04~4.99(5H in total, m, 2,2',3,3', 4-H), 5.87~6.19(3H in total, m, 6,8,6'-H), 6.32~7.20(6H in total, m, ing-H) (Fig. 16)

Compound D-2

무색 침상형

mp: 266~268°C

IR V_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3400(OH), 1710(COO)

PMR δ : 7.16(2H, s, G-H) (Fig. 16)

Compound D-3

염갈색 무정형 분말

$[\alpha]_D^{25}$: +25.4° (C=0.7, acetone)

PMR δ : 4.09(2H, s, -SCH₂-), 4.00~4.24(1H, m, 3-H), 4.38(1H, d, $J=4$ Hz, 4-H), 4.94(1H, d, $J=10$ Hz, 2-H), 5.82(1H, d, $J=2$ Hz, 6-H), 6.03(1H, d, $J=2$ Hz, 8-H), 6.76(1H, dd, $J=8, 2$ Hz, 6'-H), 6.84(1H, d, $J=8$ Hz, 5'-H), 6.93(1H, brs, 2'-H), 7.16~7.46(5H, in total, aromatic H) (Fig. 17)

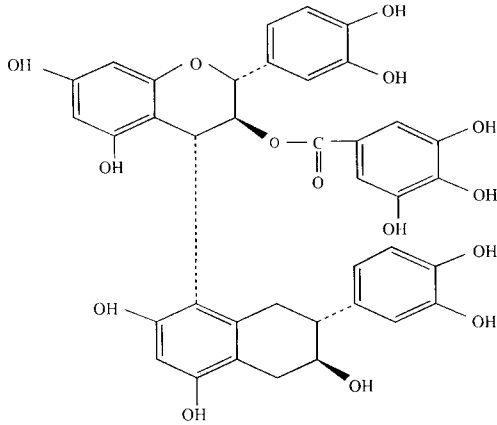


Fig. 15. Structure of compound D isolated from pear.

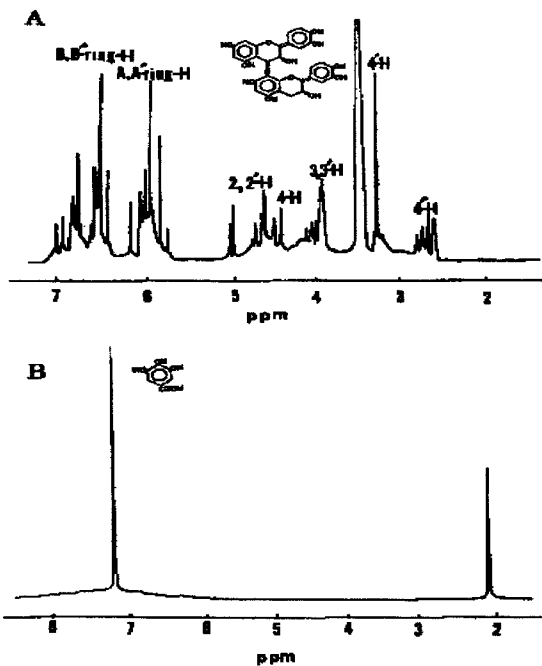


Fig. 16. PMR spectrum of compound D-1 (A) and D-2 (B).

Compound D-4

PMR δ : 2.52(1H, dd, J=16, 8 Hz, 4-H), 2.94(1H, dd, J=16, 6 Hz, 4-H), 4.02(1H, m, 3-H), 4.57(1H, d, J=8 Hz, 2-H), 5.90(1H, d, J=2 Hz, 6-H), 6.06(1H, d, J=2, Hz, 8-H), 6.75~6.92(3H, m, B-ring H) (Fig. 17)

Compound D-5

Compound D-4 와 동일 (Fig. 18)

TLC상에서 compound D의 Rf치는 제일 낮았으며 anisaldehyde 및 FeCl₃ 용액에 주황색과 청색반응을 하였기에 축합형 탄닌으로 추정할 수 있었다. Fig. 13에서와 같이 negative FAB-MS에서 729의 분자량을 얻었으므로 축합형 탄닌이 dimeric 이상의 화합물임을 알 수 있었다. Compound D의 PMR spectrum상에서 Fig. 14에서와 같이 7.63 ppm의 singlet의 6H분의 galloyl이 시사되므로 gallic acid가 결합된 화합물

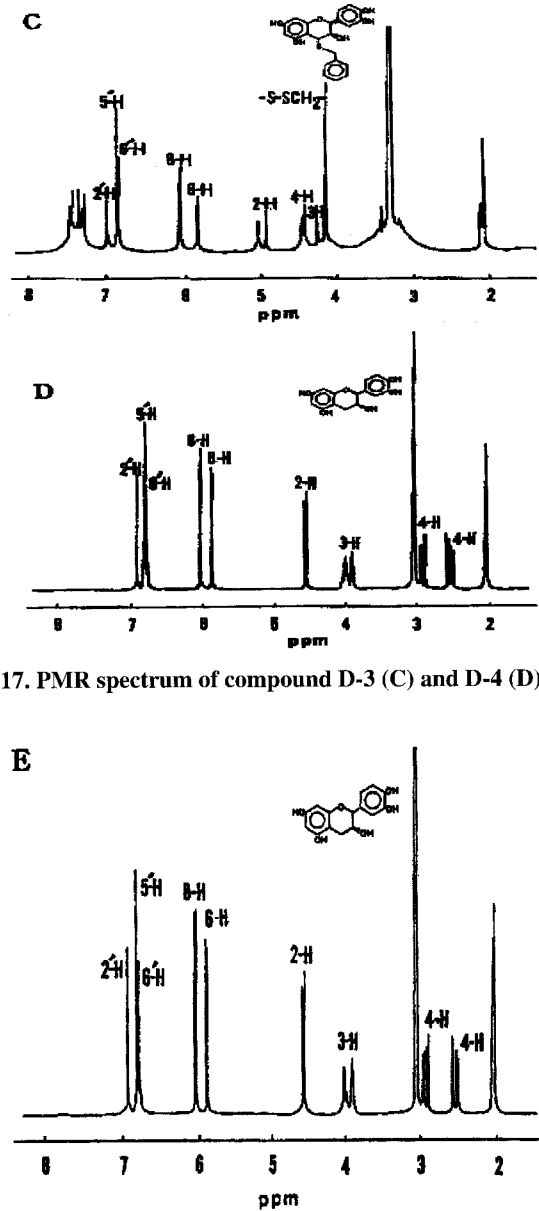


Fig. 17. PMR spectrum of compound D-3 (C) and D-4 (D).

Fig. 18. PMR spectrum of compound D-5 (E).

임을 알 수 있었고 tannase를 처리하여 가수분해한 결과 compound D-1과 D-2를 1:1 mol로 얻었다(Fig. 16).

Compound D-1은 PMR spectrum에서 4.04~4.99 ppm 사이의 2-H에 해당하는 flavan 골격의 signal이 보여지므로 catechin 유래로 추정하게 되었으나 signal이 복잡하여 판독하기 어려웠으며 compound D-2는 PMR spectrum상에서 gallic acid로 확인되었다(Fig. 16). Compound D-1은 thiolysis반응을 거쳐 Sephadex LH-20 column으로 분리한 결과 Fig. 17에서와 같이 compound D-3과 D-4가 1:1 mol의 비율로 얻어졌으며 compound D-3의 PMR spectrum을 확인한 결과 4.09 ppm(2H, s, -SCH₂-), 7.16~7.46 ppm(5H, aromatic)에서 benzylthioether화된 물질로 확인되었고 그 이외의 signal은 (+)-catechin signal과 유사하였다. 다시 물질의 확실한 결정을 위해 Raney Ni하에 탈황반응을 거쳐 Sephadex LH-20으로 정제한 결과 compound D-5를 얻을 수 있었다. Compound D-

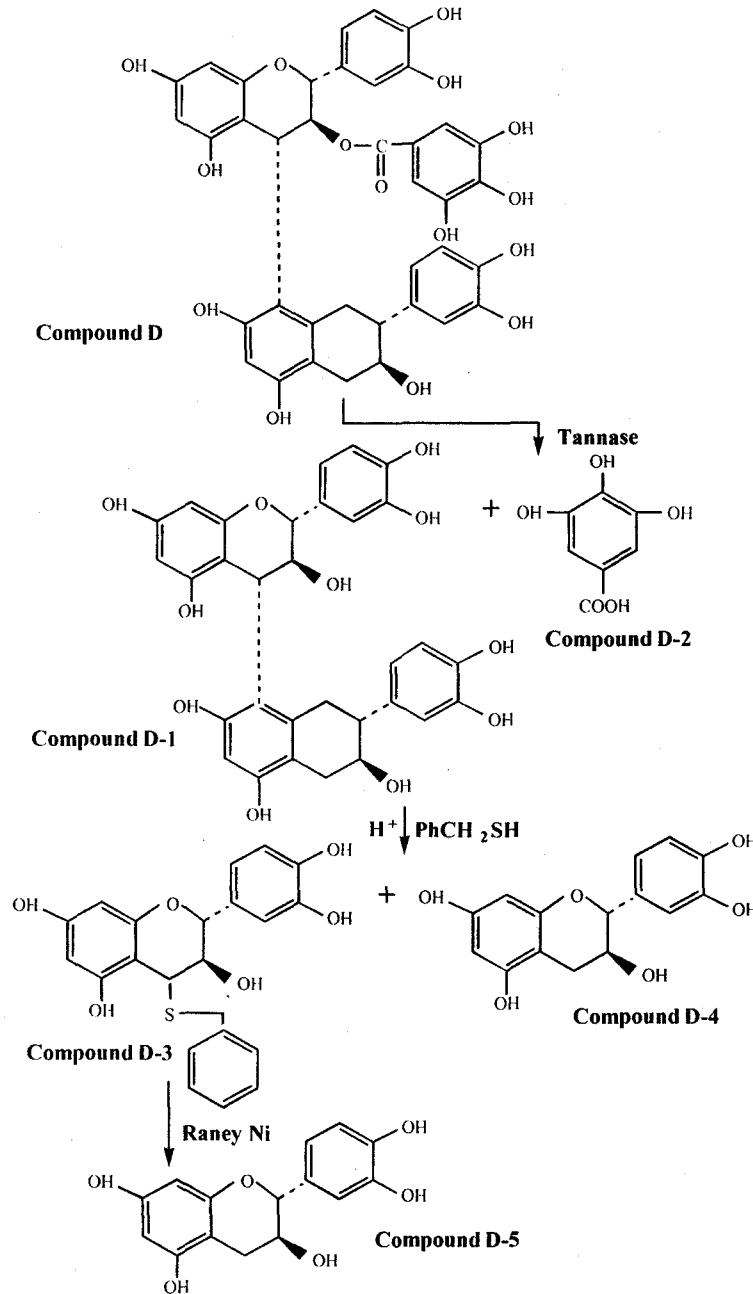


Fig. 19. Tannase treatment, thiolysis and desulfurization of compound D.

5의 PMR spectrum을 살펴본 결과 Fig. 18에서와 같이 compound A의 PMR spectrum과 일치하여 (+)-catechin으로 동정하였으며 compound D-4의 PMR spectrum도 (+)-catechin의 signal과 일치하였다(Fig. 17).

또한 compound D의 spectrum에서 상부에 해당하는 4-H의 결합정수가 크므로 compound D는 상부의 (+)-catechin-3-O-gallate, 하부의 (+)-catechin이 4 α -8의 결합 형태로 결합된 procyanidin B-3-3-O-gallate로 동정하였다(Fig. 15).

요 약

한국산 배를 60% acetone으로 추출하여 Sephadex LH-20

gel column chromatography, MCI-CHP 20 gel column chromatography, Bondapak C₁₈ gel column chromatography을 이용하여 TLC와 HPLC로 순도를 검증한 후 4종의 polyphenol 화합물을 분리, 정제하였다. Compound A와 B는 Sepadex LH-20 gel column chromatography에서 증류수상에서 용출되었고 compound C는 40% methanol상에서 용출됨을 보아 compound B와 compound C는 흡착성이 강한 polyphenol 화합물이라 추정되었다. 분리, 정제한 4종의 compound를 NMR, FAM-mass 및 FT-IR를 이용하여 화학구조를 결정한 결과 compound A는 (+)-catechin, compound B는 (+)-gallocatechin, compound C는 (-)-epigallocatechin이고 compound D는 procyanidin B-3-3-O-gallate로 밝혀졌다.

감사의 글

이 연구는 1999년도 농림부 첨단기술 개발 사업과제(No. 104320)에 의하여 연구비를 지원받아 수행하였으므로 이에 감사드립니다.

문헌

1. Yu, T.J. Sikkumbogam. p. 166. Munundang, Seoul, Korea (1989)
2. Shin, Y.U., Yun, M.S., Kim, T.C., Kim, Y.S. and Lee, K.K. A study on the processing suitability of pear and Chinese jujube cultivars. RDA J. Agric. Sci. 34: 58-65 (1992)
3. Fisher, R.B. and Bennett, A.B. Role of cell wall hydrolase in fruit ripening. Ann. Rev. plant Mol. Biol. 42: 675-703 (1991)
4. Challice, J.S. and Williams, A.H. Phenolic compounds of the genus *Pyrus*-II. A chemotaxonomic survey. Phytochemistry 7: 1781-1785 (1968)
5. Choi, H.D., Kim, K.T., Hong, H.D., Lee, B.Y. and Kim, S.S. Rheological properties of pear juice concentrates. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 845-851(1995)
6. Lee, D.S., Woo, S.K. and Yang, C.B. Studies on the chemical composition of major fruits in Korea. Korean J. Food Sci. Technol. 4: 123-139 (1975)
7. Montgomery, M.W. and Petroparkis, H.J. Inactivation of bartlett pear polyphenol oxidase with heat in the presence of ascorbic acid. J. Food Sci. 45: 1090-1091 (1980)
8. Sapers, G.M. and Douglas, Jr. F.W. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. J. Food Sci. 52: 1258-1252 (1987)
9. Kang, Y.H., Sohn, T.H. and Choi, J.U. Isolation, purification and some preparation of polyphenol oxidase from pear. Agric. Res. Bull. Kyung-Book Natl. Univ. 4: 55-64 (1986)
10. Park, N.P., Choi, Y.H. and Lee, O.M. Study on the storage of pear (II). The effect of polyethylene film packaging and CO₂ shock on the storage of pear. Korean J. Soc. Hort. Sci. 7: 21-25 (1970)
11. Sharma, A. and Sehgal, S. Effect of domestic processing, cooking and germination on the trypsin inhibitor activity and tannin content of faba. Plant Food Human Nutr. 42: 127-231 (1992)
12. Spanos, G.A. and Wrolstard, R.E. Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. J. Agric. Food Chem. 40: 1478-1487 (1992)
13. Okuda, T., Yoshida, T. and Ashida, M. Tannins of medicinal plants and drugs. Heterocycles 16: 1618-1622 (1981)
14. Haslam, E. Plant Polyphenols, Vegetable Tannin Revisited, pp. 48-59. Cambridge University Press, Cambridge, UK (1989)
15. Haslam, E. Chemistry of Vegetable Tannins, pp. 146-152. Academic Press, New York, USA (1966)
16. Jangaard, N.O. Thin-layer chromatography of some plant phenolics. J. Chromatogr. 50: 146-148 (1970)
17. Hashimoto, F., Nonaka, G.I. and Nishioka, I. Tannins and related compounds from oolong tea. Chem. Pharm. Bull. 37: 3255-3263 (1989)
18. Furuichi, E.E., Nonaka, G.I., Nishioka, I. and Hayashi, K. Isolation and structures of procyanidins (condensed tannins) from *Phaphiolepis umbellata*. Agric. Biol. Chem. 50: 2061-2067 (1986)
19. Hsu, F.L., Nonaka, G.I. and Nishioka, I.N. Tannins and related compounds. Isolation and characterization of procyanidins in *Dioscorea cirrhosa* Lour. Chem. Pharm. Bull. 33: 3293-3298 (1985)
20. An, B.J. and Lee, J.T. Studies on the chemical structure of polyphenols isolated from medicinal plant. J. Life Resour. Ind. 3: 48-58 (1998)
21. An, B.J., Bae, M.J. and Choi, C. Chemical structures and isolation glucosyltransferase inhibitor from the leaves of Korean persimmon. Korean J. Food Sci. Technol. 7: 23-27 (1998)
22. Takashi, Y., Fuminisa, N. and Takuo, K. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants. VIII. Nobotanins L, M and trimeric hydrolyzable tannins from *Tibouchina semidecandra*. Chem. Pharm. Bull. 47: 824-827 (1999)
23. Takashi, Y., Wakayo, O., Kumiko, H., Hideyuki, O., Kohikchi, I., Yoshiaki, O., Tetsuro, S. and Takuo, O. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants. II. Nobotanins B, C and E, hydrolyzable tannins dimer and trimers from *Tibouchina semidecandra* C_{OGN}. Chem. Pharm. Bull. 39: 2246-2270 (1991)
24. Takashi, Y., Atallah, F., Ahmed, M.U., Menon and Takuo, O. Tannins of tamaricaceous plants. II. New monmeric and dimeric hydrolyzable tannins from *Reaumuria hirtella* and *Tamarixpakistanica*. Chem. Pharm. Bull. 39: 2849-2854 (1991)
25. Choi, H.J. Changes of components according to persimmon leaves (*Diospyros kaki* folium) growth and the effects of enzyme inhibition in physiologically active compounds. Yeungnam University. M.S. thesis, Kyungsan, Korea (1997)
26. Hashimoto, F., Nonaka, G.H. and Nishioka, I. Isolation of four new acylated flavan-3-ols from oolong tea. Chem. Pharm. Bull. 35: 611-616 (1987)
27. Nonaka, G.H. Isolation and structure elucidation of tannins. Pure Appl. Chem. 63: 357-360 (1989)

(2003년 4월 14일 접수; 2003년 9월 22일 채택)