creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

약학석사 학위논문

Jacobaea vulgaris 잎과 줄기의 다이하이드로스틸벤 및 플라보노이드 성분 연구

Dihydrostilbenes and flavonoids from the leaves and branches of *Jacobaea vulgaris*

2022 년 7 월

서울대학교 대학원

약학과 생약학전공

이 신 애

Jacobaea vulgaris 잎과 줄기의 다이하이드로스틸벤 및 플라보노이드 성분 연구

Dihydrostilbenes and flavonoids from the leaves and branches of *Jacobaea vulgaris*

지도 교수 진 영 원

이 논문을 약학석사 학위논문으로 제출함
2022 년 6 월

서울대학교 대학원
약학과 생약학전공
이 신 애

이신애의 약학석사 학위논문을 인준함
2022 년 7 월

위 원 장 _____ (인)

부위원장 _____ (인)

위 원 _____ (인)

초 록

Jacobaea vulgaris Gaertn. (동의어. *Senecio jacobaea* L.)는 Asteraceae과에 속하는 현화식물로 유럽, 서아시아, 북아메리카, 오스트레일리아, 뉴질랜드에 분포한다. *J. vulgaris*는 말레이시아, 인도네시아, 인도에서 소아의 다양한 질병을 치료하기 위한 약초로 사용되었고, 서유럽에서는 음용할 수 있는 차로 소비되었다. 또한, 이 식물에는 senecionine, jaconine 등 pyrrolizidine alkaloid가 함유되어 있어서 인간에게 간독성을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 *J. vulgaris*에서 pyrrolizidine alkaloid 이외의 생리활성 화학성분 연구를 목적으로 진행하였다.

J. vulgaris 잎과 줄기 부위의 MeOH 추출물을 다양한 column chromatography 방법을 통해 12종의 dihydrostilbene, 7종의 flavonoid, 1종의 caffeoylquinic acid 등 총 20종의 화합물을 분리하였다. 분리된 20종의 화합물은 각종 이화학적 및 분광학적 방법 (1D and 2D NMR spectroscopy, LC−MS, and HRESIMS, ECD)으로 11종의 신규 dihydrostilbene (**1**−**11**)과 1종의 신규 flavanone (**12**)의 화학구조를 결정하였고, 8종의 기지 화합물 (flavonoid 6종, dihydrostilbene 1종, caffeoylquinic acid 1종)의 화학구조도 동정하였다.

주요어 : *Jacobaea vulgaris*, Asteraceae, dihydrostilbene, flavonoid

학 번 : 2020−25439

목 차

제 1 장 서 론 1

제 1 절 연구의 배경 1

제 2 절 연구의 목적 4

제 2 장 실험 재료 및 방법 5

제 1 절 실험 재료 5

2.1.1. 식물 재료 5

2.1.2. 시약 및 재료 5

2.1.3. 장비 6

2.1.4. Software. 7

제 2 절 실험 방법 8

2.2.1. 추출, 분리 및 정제 8

2.2.2. 분리한 화합물의 화학적 · 분광학적 특성 13

2.2.3. ECD Calculation을 통한 화합물의 절대 구조 해석 34

제 3 장 연구 결과 및 고찰 35

제 1 절 *Jacobaea vulgaris*에서 분리된 화합물의 화학 구조 해석 35

3.1.1. 화합물 1 35

3.1.2. 화합물 2 41

3.1.3. 화합물 3 47

3.1.4. 화합물 4 52

3.1.5. 화합물 5 57

3.1.6. 화합물 6 62

3.1.7. 화합물 7 68

3.1.8. 화합물 8 74

3.1.9. 화합물 9 80

3.1.10. 화합물 10 86

3.1.11. 화합물 11 91
3.1.12. 화합물 12 97
3.1.13. 화합물 13 103
3.1.14. 화합물 14 106
3.1.15. 화합물 15 109
3.1.16. 화합물 16 112
3.1.17. 화합물 17 116
3.1.18. 화합물 18 119
3.1.19. 화합물 19 121
3.1.20. 화합물 20 125
제 4 장 결론.....128
제 5 장 참고문헌 129
Abstract 135

표 목차

Table 1. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 1–4 21
Table 2. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 5–8 23
Table 3. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 9–12 26
Table 4. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 13–15 28
Table 5. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 16–18 30
Table 6. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compound 19.....32
Table 7. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compound 20.....32

그림 목차

Figure 1. Chemical structures of representative pyrrolizidine alkaloid from *J. vulgaris* 2
Figure 2. Leaves and branches of *Jacobaea vulgaris* 5
Figure 3. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **1** (recorded at 400/125 MHz, DMSO−d_6) 37
Figure 4. DEPT−135 spectrum of compound **1** (recorded at 100 MHz, DMSO−d_6) 38
Figure 5. HSQC spectrum of compound **1** (recorded at 600/150 MHz, DMSO−d_6) 38
Figure 6. Key COSY correlations of compound **1** in DMSO−d_6 39
Figure 7. Key HMBC correlations of compound **1** in DMSO−d_6 39
Figure 8. Calculated and experimental ECD spectra of compound **1** 40
Figure 9. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **2** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 43
Figure 10. DEPT−135 spectrum of compound **2** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 44
Figure 11. HSQC spectrum of compound **2** in MeOH−d_4 44
Figure 12. Key COSY correlations of compound **2** in MeOH−d_4 45
Figure 13. Key HMBC correlations of compound **2** in MeOH−d_4 45
Figure 14. NOESY spectrum of compound **2** in MeOH−d_4 46
Figure 15. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **3** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 49
Figure 16. HSQC spectrum of compound **3** in MeOH−d_4 50
Figure 17. Key COSY correlations of compound **3** in MeOH−d_4 50

Figure 18. Key HMBC correlations of compound **3** in MeOH−d_4..51
Figure 19. NOESY spectrum of compound **3** in MeOH−d_4.....51
Figure 20. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **4** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4).....53
Figure 21. DEPT−135 spectrum of compound **4** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 54
Figure 22. HSQC spectrum of compound **4** in MeOH−d_4 54
Figure 23. Key COSY correlations of compound **4** in MeOH−d_4...55
Figure 24. Key HMBC correlations of compound **4** in MeOH−d_4..55
Figure 25. NOESY spectrum of compound **4** in MeOH−d_4.....56
Figure 26. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **5** (recorded at 400/200 MHz, MeOH−d_4).....59
Figure 27. HSQC spectrum of compound **5** in MeOH−d_4 60
Figure 28. Key HMBC correlations of compound **5** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz) 61
Figure 29. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **6** (recorded at 800/100 MHz, DMSO−d_6).....64
Figure 30. DEPT−135 spectrum of compound **6** (recorded at 100 MHz, DMSO−d_6) 65
Figure 31. HSQC spectrum of compound **6** in DMSO−d_6 65
Figure 32. Key COSY correlations of compound **6** in DMSO−d_6...66
Figure 33. Key HMBC correlations of compound **6** in DMSO−d_6..66
Figure 34. Key HMBC correlations of compound **6** in DMSO−d_6 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz) 67
Figure 35 Calculated and experimental ECD spectra of compound **6** 67
Figure 36. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **7** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4).....70

Figure 37. DEPT−135 spectrum of compound **7** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 71
Figure 38. HSQC spectrum of compound **7** in MeOH−d_4 71
Figure 39. Key COSY correlations of compound **7** in MeOH−d_4 ...72
Figure 40. Key HMBC correlations of compound **7** in MeOH−d_4 ..72
Figure 41. NOESY spectrum of compound **7** in MeOH−d_4 73
Figure 42. Calculated and experimental ECD spectra of compound **7** 73
Figure 43. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **8** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 76
Figure 44. DEPT−135 spectrum of compound **8** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 77
Figure 45. HSQC spectrum of compound **8** in MeOH−d_4 77
Figure 46. Key COSY correlations of compound **8** in MeOH−d_4 ...78
Figure 47. Key HMBC correlations of compound **8** in MeOH−d_4 ..78
Figure 48. NOESY spectrum of compound **8** in MeOH−d_4 79
Figure 49. Calculated and experimental ECD spectra of compound **8** 79
Figure 50. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **9** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 82
Figure 51. DEPT−135 spectrum of compound **9** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 83
Figure 52. HSQC spectrum of compound **9** in MeOH−d_4 83
Figure 53. Key COSY correlations of compound **9** in MeOH−d_4 ...84
Figure 54. Key HMBC correlations of compound **9** in MeOH−d_4 ..84
Figure 55. NOESY spectrum of compound **9** in MeOH−d_4 85
Figure 56. Calculated and experimental ECD spectra of compound **9** 85

Figure 57. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **10** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 87
Figure 58. DEPT−135 spectrum of compound **10** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 88
Figure 59. HSQC spectrum of compound **10** in MeOH−d_4 88
Figure 60. Key COSY correlations of compound **10** in MeOH−d_4 89
Figure 61. Key HMBC correlations of compound **10** in MeOH−d_4 89
Figure 62. NOESY spectrum of compound **10** in MeOH−d_4.....90
Figure 63. Calculated and experimental ECD spectra of compound **10**.....90
Figure 64. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **11** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 93
Figure 65. HSQC spectrum of compound **11** in MeOH−d_4 94
Figure 66. Key COSY correlations of compound **11** in MeOH−d_4 94
Figure 67. Key HMBC correlations of compound **11** in MeOH−d_4 95
Figure 68. Key HMBC correlations of compound **11** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz) 95
Figure 69. NOESY spectrum of compound **11** in MeOH−d_4.....96
Figure 70. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **12** (recorded at 400/125 MHz, MeOH−d_4) 99
Figure 71. DEPT−135 spectrum of compound **12** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4) 100
Figure 72. HSQC spectrum of compound **12** in MeOH−d_4 100
Figure 73. Key HMBC correlations of compound **12** in MeOH−d_4....

.....101
Figure 74. Key HMBC correlations of compound **12** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz) 101
Figure 75. NOESY spectrum of compound **12** in MeOH−d_4.....102
Figure 76. Calculated and experimental ECD spectra of compound **12**.....102
Figure 77. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **13** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 104
Figure 78. HSQC spectrum of compound **13** in MeOH−d_4 105
Figure 79. Key HMBC correlations of compound **13** in MeOH−d_4 105
Figure 80. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **14** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 107
Figure 81. HSQC spectrum of compound **14** in MeOH−d_4 108
Figure 82. Key HMBC correlations of compound **14** in MeOH−d_4.... 108
Figure 83. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **15** (recorded at 800/200 MHz, DMSO−d_6) 110
Figure 84. Key HMBC correlations of compound **15** in DMSO−d_6.... 111
Figure 85. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **16** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 113
Figure 86. HSQC spectrum of compound **16** in MeOH−d_4 114
Figure 87. Key HMBC correlations of compound **16** in MeOH−d_4.... 114
Figure 88. ECD spectrum of compound **16** 115
Figure 89. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **17** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 117

Figure 90. Key HMBC correlations of compound **17** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz) 118
Figure 91. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **18** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 120
Figure 92. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **19** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4) 122
Figure 93. HSQC spectrum of compound **19** in MeOH−d_4 123
Figure 94. HMBC spectrum of compound **19** in MeOH−d_4 123
Figure 95. NOESY spectrum of compound **19** in MeOH−d_4.....124
Figure 96. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **20** (recorded at 400/100 MHz, DMSO−d_6) 126
Figure 97. HSQC correlations of compound **20** in DMSO−d_6 .....
.....127
Figure 98. Key HMBC correlations of compound **20** in DMSO−d_6....
.....127

Scheme 목차

Scheme 1. Isolation scheme of compounds from *Jacobaea vulgaris*
.....12

List of Abbreviations

Abbreviates	Description
CC	column chromatography
COSY	correlation spectroscopy
$CHCl_3$	chloroform
CH_3CN	acetonitrile
d	doublet
dd	doublet of doublet
DMSO	dimethylsulfoxide
DMSO−d_6	deuterated dimethyl sulfoxide
EA	ethyl acetate
ECD	electronic circular dichroism
FA	formic acid
FT−IR	fourier transform infrared
h	hours
Hex	hexane
HPLC	high performance liquid chromatography
HRESIMS	high resolution electrospray ionization mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
Hz	herz
m	multiplet
MeOH	methanol
MeOH −d_4	deuterated methanol
MPLC	middle performance liquid chromatography
m/z	mass to charge ratio
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear overhauser enhancement spectroscopy
NP	normal−phase (silica gel)
Q−TOF−MS	quadrupole time of flight mass spectrometer
RP	reversed phase (silica gel)
RT	room temperature
s	singlet
t	triplet
TLC	thin layer chromatography
t_R	retention time
UHPLC	ultra high performance liquid chromatography
UV	ultraviolet absorption spectroscopy
$[\alpha]_D$	specific rotation

제 1 장 서 론

제 1 절 연구의 배경

1.1.1. *Jacobaea vulgaris* Gaertn.

Jacobaea vulgaris Gaertn. (동의어. Senecio jacobaea L.)은 Asteraceae과에 속하는 현화식물로 한 때 Senecio속으로 분류되었지만 (Pieter et al., 2006), 단일계통을 유지하기 위해서 분자 계통학의 기반으로 *Jacobaea* 속으로 분리되었다 (Pelser et al., 2002; Mezache et al., 2019). *J. vulgaris*는 보통 월년초(biennial herb)로 첫 해에는 로제트형으로 자라나고, 두번째 해에 추대 및 개화 현상을 볼 수 있다. 그러나 외부로부터 개화를 막는 손상을 입으면 다년생 초본이 될 수 있다. *J. vulgaris*의 개화는 로제트의 최소 크기 형성으로부터 부분적으로 조절되며 종자에 의해 번식한다 (Harper., 1957a; Leiss., 2011; Van der Meijden et al., 1979). 그리고 보통 유럽, 서아시아, 북아메리카, 오스트레일리아와 뉴질랜드에 널리 분포한다 (Harper., 1957b). *J. vulgaris*는 말레이시아, 인도네시아, 인도에서 소아의 다양한 질병을 치료하기 위한 약초로 사용되었으며 서유럽에서는 지역 약초의 효능을 믿는 사람들 사이에서 음용할 수 있는 차로 소비되기도 하였다는 기록이 전해진다 (Clark., 1976). *J. vulgaris*는 tansy ragwort으로도 불리며 ragwort 종에는 marsh ragwort (*Senecio aquaticus*), Oxford ragwort (*Senecio squalidus*)가 포함된다. Ragwort에서는 주로 phenylproanoid, flavonoid, jacaranone, pyrrolizidine alkaloid 계열 화합물을 찾아볼 수 있다 (Harper., 1957a). 특히 이 식물에는 senecionine, seneciphylline, jaconine, jacobine, jacoline, jacozine 등을 포함하는 pyrrolizidine alkaloid가 함유되어 있으며 pyrrolizidine alkaloid의 독성 효과는 잘 알려져 있다 (Deinzer et al., 1977).

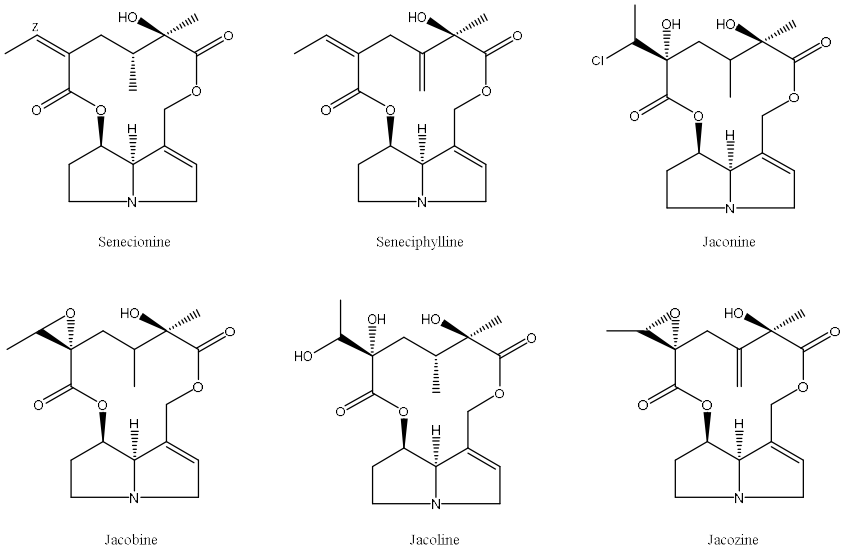


Figure 1. Chemical structures of representative pyrrolizidine alkaloid from *J. vulgaris*

식물 내에서 pyrrolizidine alkaloid는 주변환경으로부터 스스로를 보호하기 위한 방어기작으로 작용하며 씨앗과 꽃 부위에 주로 축적된다. 그러나 pyrrolizidine alkaloid는 동물과 인간에게는 치명적으로 작용하는데, senecio alkaloid가 흙에서 음식이나 사료로의 이동으로 동물 체내로 옮겨져서 독성을 유발한다 (Crews et al., 2009; Kalač and Kaltner., 2021; Wiedenfeld., 2011). Pyrrolizidine alkaloid로부터 발생하는 독성 문제는 *J. vulgaris*가 널리 분포한 독일 목초지에서 사육되는 말을 포함하는 많은 가축의 중독 증상으로 드러났다 (Cheeke., 1989). 동물과 인간의 간을 주요 타겟으로 작용하여 간독성을 유발시킬 뿐만 아니라, pyrrolizidine alkaloid를 포함한 식물이나 음식을 섭취하면, 폐, 신장, 뇌와 같은 다른 기관에서 종양이 발견되었다는 기록이 있다 (Chen et al., 2010). 그리고 pyrrolizidine alkaloid는 unsaturated amino alcohol로 빠르게 분해되는 특징을 가지고 있으며, *J. vulgaris*를 10주 동안 보관하였을 때 완전히 분해된다는 연구 결과를 통해 *J. vulgaris*를 섭취하는 가축의 독성 문제의 해결 가능성을 찾을 수 있었다(Crews et al., 2009).

Pyrrolizidine alkaloid는 암을 유발시키는 요인이 되기도 한다. Pyrrolizidine alkaloid 대사는 DNA에 손상을 줄 수 있으며, DNA adducts, DNA strand breakage, unscheduled DNA synthesis와 같은 다양한 반응이 나타날 수 있다 (Kedzierski and Buhler., 1986; Chen et al., 2010). Pyrrolizidine alkaloid에 의해 bacteria mutation이 발생하기도 하는데, *Salmonella typhimurium* microsome test는 pyrrolizidine alkaloid 돌연변이원성시험으로 광범위하게 사용된다. 그러나 상반되는 결과들이 존재하는데, *S. typhimurium*의 Ames test에서 몇몇 pyrrolizidine alkaloid의 돌연변이 유발력은 보이지 않는 것으로 밝혀졌다(Clark., 1976; Rubiolo et al., 1992). *J. vulgaris* 아세톤 추출물에서 분리한 senecio pyrrolizidine alkaloid는 음성 반응을 보였는데, 추출물 자체의 salmonella mutagenicity test의 결과는 양성반응으로 도출되었다 (White et al., 1987; Bovee et al., 2015). 이러한 *J. vulgaris*의 Ames test 결과를 토대로, 이 식물 내 pyrrolizidine alkaloid 이외 다른 요인에 의해 *S. typhimurium* microsome test 양성 반응이 나타난 것으로 유추할 수 있다.

*J. vulgaris*에는 pyrrolizidine alkaloid 외 다른 계열인 quercetin 화합물의 존재도 찾아볼 수 있었다 (Bovee et al., 2015.) Flavonoid 중에서 flavonol인 quercetin은 많은 dietary plants에 포함되어 있고, 건강에 도움이 된다고 광범위하게 연구되어 왔다(Manach et al., 2005). 그러나 *Salmonella typhimurium* strain TA97, TA98, TA100, TA102에서 Ames test를 통한 quercetin의 mutagenic activity를 확인할 수 있는 결과들이 존재한다 (Macgregor and Jurd., 1978; Czeczot et al., 1990). Quercetin은 당뇨병, 비만, 순환 기능 장애, 염증과 같은 여러 질병에 대한 phytochemical remedy로 이용되고 있다 (D'Andrea., 2015). Tonie 논문에 따르면, *J. vulgaris* 내에 존재하는 flavonoid인 quercetin이 pyrrolizidine alkaloid 보다 Ames

test의 mutagenic effects 결과에 영향을 주기 때문에, *J.* vulgaris의 total extract에서 측정되는 quercetin 양에 따라 Ames test의 양성 결과를 설명할 수 있는 근거가 된다. *J. vulgaris* sample에서 92.5 ㎍/mL 높은 농도로 quercetin이 있다는 사실이 발견되었고 (Bovee et al., 2015), 이를 통해 *J. vulgaris*에 pyrrolizidine alkaloid 화합물 이외에 flavonoid 화합물의 존재를 알 수 있었다.

제 2 절 연구의 목적

선행연구에서는 *J. vulgaris*에서 pyrrolizidine alkaloid 계열 화합물 분석 연구가 주로 이루어졌으며, 페놀성 화합물도 찾아볼 수 있었다. 그래서 본 연구에서는 *J. vulgaris*에 있는 flavonoid을 포함한 특이적인 새로운 화학구조 및 pyrrolizidine alkaloid 이외의 화합물에 대한 연구를 진행하였다. 분리한 화합물들은 각종 이화학적 및 분광학적 방법을 이용하고 기존에 보고된 문헌을 참조하여서 화학구조를 규명하였다.

제 2 장 실험 재료 및 방법

제 1 절 실험 재료

2.1.1. 식물 재료

Jacobaea vulgaris Gaertn.은 서몽골 Khovd 도시에 있는 Soum Erdeneburen의 Canyon Sejigt에서 채집하였다. 이 식물의 표본은 한국생명공학연구원 해외생물소재센터 소속 이윤경, 백진협 박사에 의해 결정되었다. 바우처 샘플은 KRIB 0022884, KRIB 0022885로 기록되어서 동일 기관의 식물 표본실에 보관되어 있다.

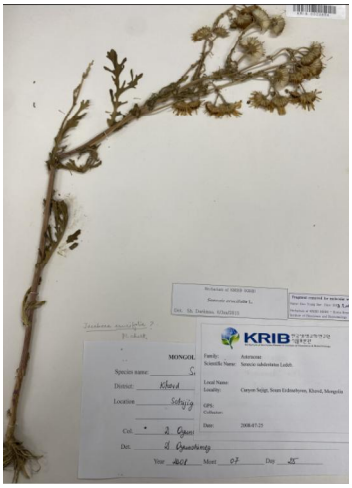


Figure 2. Leaves and branches of *Jacobaea vulgaris*

2.1.2. 시약 및 재료

-Anisaldehyde-H_2SO_4 (TLC plate spraying with Solvent)
-Dimethyl sulfoxide-d_6 (D, 99.9%), +0.05% v/v TMS (Cambridge (CIL), Inc., USA)
-Formic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)

-HPLC 등급 acetonitrile 및 methanol (SK chemical, Korea)

- Methanol-d_4 (D, 99.8%) +0.05% v/v TMS (Cambridge (CIL), Inc., USA)

-Biotage SNAP HP-Sil cartridge (Biotage, Uppsala, Sweden)

-Column Chromatography (CC) silica gel (particle size: 40-60 μm, 230-400 mesh, Merck, Darmstadt, Germany)

-Cosmosil 140C18 RP silica gel, MPLC column (Cosmosil, Kyoto, Japan)

-Luna, C18 (S-5 ㎛, 250 x 100 mm, Phenomenex, CA, USA)

-Optimapak C18-51002510, HPLC column (S-10 μm, 250 x 10 mm, RStech Co. Korea)

-Sephadex LH-20 (GE Healthcare, Uppsala, Sweden)

-TLC Silica gel 60 F_{254} plates (Merck, Darmstadt, Germany)

-TLC Silica gel 60 RP-18 F_{254S} plates (Merck, Darmstadt, Germany)

-Waters BEH C18, HRESI-QTOF-MS column (2.1 x 150 mm, 1.7 μm, Waters USA) - YMC-Pack Ph, HPLC column (S-5 μm, 250 x 10 mm, YMC Co., Ltd., Japan)

-YMC-Pack Ph, HPLC column (S-5 μm, 250 x 4.6 mm, YMC Co., Ltd., Japan)

-YMC-ODS-A, HPLC column (S-5 μm, 250 x 10 mm, YMC Co., Ltd., Japan)

2.1.3. 장비

-A Biotage Isolera One, medium-pressure liquid chromatography (MPLC) (Biotage, Uppsala, Sweden)

-ASCO P-2000 digital polarimeter (JASCO, Tokyo, Japan/JASCO, Easton, MD, USA)

-Bruker AVANCE 500 MHz spectrometer (Bruker, USA)
-Bruker AVANCE 800 MHz spectrometer (Bruker, Karlsruhe, Germany)
-Convection oven CO-81, Autoclave (Hanyang Scientific Equipment Co., Ltd)
-Chirascan-Plus Electronic circular dichroism (Applied Photophysics Ltd, Japan)
-EYELA CA-1112CE, Low temperature ciculator (Eyela., USA)
-EYELA N-1200AS-W, Evaporator (Eyela., Japan)
-FT-IR (JASCO, FT/IR-4700)
-Gilson 321 pump and Gilson 172 diode array detector, Semipreparative high-pressure liquid chromatography (HPLC) (Gilson, Madison, WI, USA)
-JNM-ECA AVANCE 400 MHz spectrometer (JEOL Ltd., Japan)
-JNM-ECA AVANCE 600 MHz spectrometer (JEOL Ltd., Japan)
-Milli-Q system (Waters Corporation, Milford, MA, USA)
-POWER SOMIC 520, Ultrasonic Bath Sonicator (HWASHIN TECH Co, Korea)
-UV Hand Lamp VL-4.LC (Vilber Lourmat, France)
-UV/vis spectrophotometer (Beckman Coulter GmbH, North Rhine-Westphalia, Germany).
-Waters Xevo G2 Q-TOF mass spectrometer, UHPLC-ESI-QTOF-MS (Waters, Medford, MA, USA)

2.1.4. Software

Mass spcetrum 측정 및 분석은 MassLynx 4.0 software (Waters Co., USA)와 MassHunter software (Agilent Co., USA)를 통해 수행되었다.

NMR spectrum의 편집 및 분석에는 Chemdraw 20.0 (ChemOffice, PerkinElmer)와 MestReNova software (Mastrelab Research, Escondido, CA, USA)가 사용되었으며 ECD calculation 실험에서 ChemBio3D Ultra 13.03 (ChemOffice, PerkinElmer), Spartan '16 V2.0.7 (*Wavefunction* Irvine, CA, USA)와 Gaussian 16 software (Gaussian Inc., Wallingford, CT, USA)가 사용되었고 calculated ECD spectra는 SpecDis 1.71 software (University of Wuerzburg, Wuerzburg, Germany)를 통해 생성되었으며, experimental ECD spectrum과 비교하여 나타내었다.

제 2 절 실험 방법

2.2.1. 추출, 분리 및 정제

*Jacobaea vulgaris*의 잎과 줄기 (161 g)를 99.9% MeOH 1 L에 넣고 3일간 실온에서 초음파 처리하였다. 그리고 40℃에서 감압 농축 및 필터 처리하여 메탄올 추출물 (13.8 g)을 얻었다. 메탄올 추출물 (13.8 g)을 RP-MPLC (MeOH:H_2O, 20:80→100:0)를 실시하여 총 17개의 분획물 (JV1 to JV17)을 얻었다.

JV5는 hexane과 ethyl acetate (1:1) 이동상으로 시작하여 $CHCl_3$과 MeOH (50:1→0:1) 이동상으로 치환하여 silica gel open column chromatography를 실시하였으며, 총 15개의 분획으로 (JV5_A to JV5_O) 나누었다. 이 중에서 JV5_J (82.6 mg)는 HPLC (YMC-Pack Pro C18, S-5 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 15%→37.3%, 4ml/min, 330 nm) 조건으로 화합물 **20** (6.4 mg, t_R= 24.6 min)을 분리하였다. JV5_M (84.3 mg)은 Sephadex LH-20을 활용하여 MeOH 100%로 10개 (JV5_MA to JV5_MO)를 RP TLC 실험 결과 (H_2O:MeOH:FA 4:6:0.2)를 토대로 분획을 나누었으며 JV5_MO 분획인

화합물 **13** (1.4 mg)을 얻었으며, 그 중에서 소분획 JV5_MK (31.5 mg)은 HPLC (YMC-Pack Ph, S-5 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 14%→20.4%, 4ml/min, 200 nm) 조건으로 화합물 **14** (10.5 mg, t_R= 35.5 min)를 분리하였다.

JV8 분획 (653.9 mg)을 대상으로 silica gel column chromatograpy $CHCl_3$과 MeOH 이동상 (100:0→0:100)을 진행하여서 총 14개의 분획 (JV8_1 to JV8_14)을 분리하였다. 화합물 **6** (5.7 mg, t_R= 25.8 min)과 화합물 **1** (1.5 mg, t_R= 41.2 min)은 소분획 JV8_6 (23.1 mg)에서 preparative HPLC (Optimapak C18-51002510, S-10 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 (FA 0.1%) 31%→36%, 4 ml/min, 206 nm) 실험으로 분리되었다.

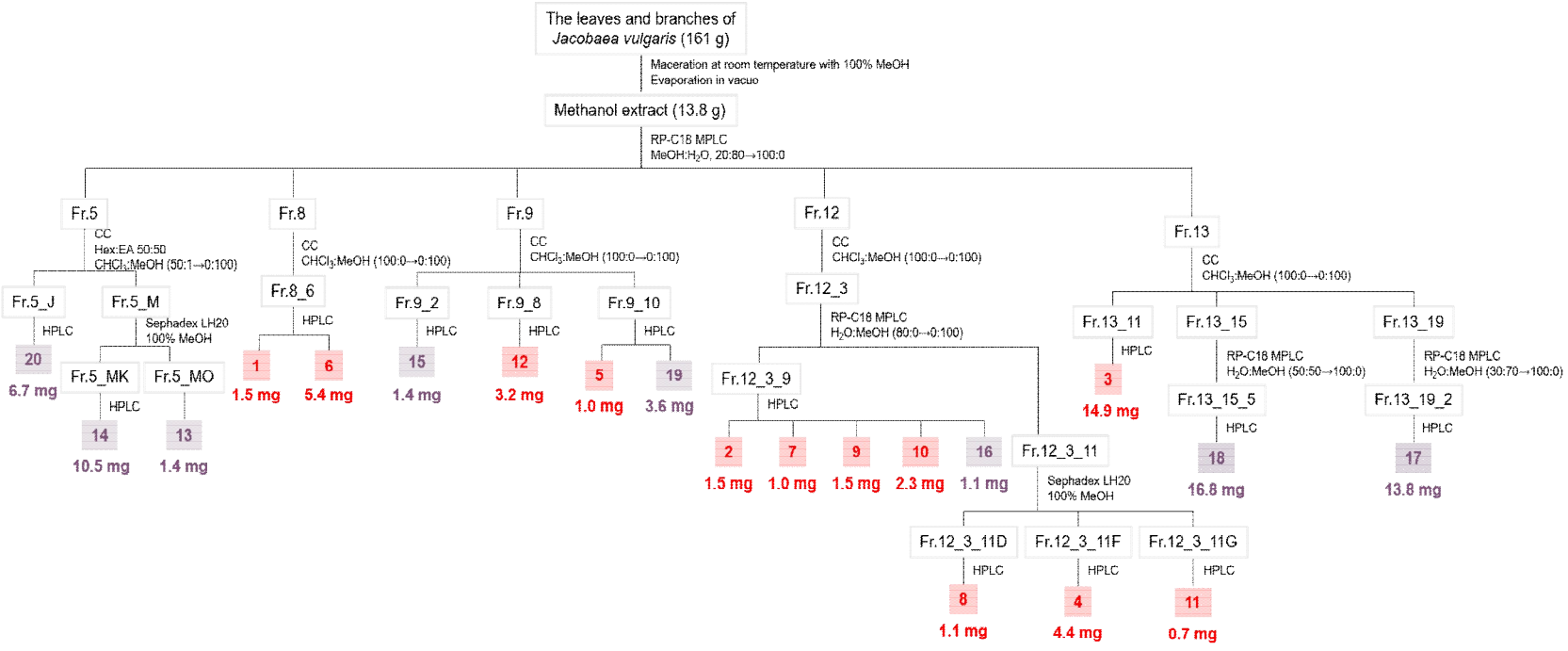
JV9 (1088.4 mg)는 silica gel column chromatograpy를 $CHCl_3$과 MeOH 2상용매계 100:1로 전개를 시작으로 최종적으로 0:100으로 마무리하여 24개의 소분획 (JV9_1 to JV9_24)으로 나누었다. 화합물 **15** (1.4 mg, t_R= 39.0 min), 은 JV9_2 (143 mg)에서 70% CH_3CN 수용액 (FA 0.1%) isocratic condition으로 HPLC (YMC-Pack Ph, S-5 μm, 250 x 10 mm, 4ml/min, 216 nm)를 통해 분리하였다. JV9_8 (31.3 mg)은 prep-HPLC (YMC-Pack Ph, S-5 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 33%→54%, 4 ml/min, 216 nm) 실험을 하여서 화합물 **12** (3.2 mg, t_R= 18.8 min)를 얻었다. JV9_10 (23.0 mg)은 semipreparative HPLC를 실시하여 이동상 38% CH_3CN (0.1% FA) 조건에서 dihydrostilbene 계열의 화합물 **19** (3.6 mg, t_R= 18.1 min), 화합물 **5** (1.0 mg, t_R= 22.5 min)을 분리하였다.

JV12 (970.0 mg)를 silica gel column chromatography ($CHCl_3$:MeOH, 100:1→0:100) 실험을 실시하여 9개의 소분획 (JV12_1 to JV12_9)을 얻었다. 소분획 JV12_3 (343.1 mg)은 RP C18 resin을 활용한 MPLC 실험에서 수용액 MeOH 20%에서→100%로 전개하여 254 nm 및 280 nm 파장에서 측정된 결과를 바탕으로 총

12개의 분획을 소분하였다. 그 중 JV12_3_9 (47.4 mg)를 CH_3CN (0.1% FA) 수용액 40%에서 58%까지 35분간 극성을 높인 후 15분 동안 isocratic gradient로 유지하는 용매조건으로 semi preparative HPLC (Optimapak C18-51002510, S-10 μm, 250 x 10 mm, 3 ml/min, 200 nm)실험을 통해 화합물 **7** (1.0 mg, t_R= 27.8 min), 화합물 **9** (1.5 mg, t_R= 29.0 min), 화합물 **10** (2.3 mg, t_R= 32.3 min), 화합물 **2** (3.1 mg, t_R= 39.2 min) 총 4개의 화합물을 분리하였으며, 41.2 분에서 얻은 4.3 mg 분획은 HPLC (YMC-Pack Ph, S-10 μm, 250 x 4.6 mm, CH_3CN 수용액 (0.1% FA) 28%, 1.5 ml/min, 195 nm) 방법으로 화합물 **16** (1.1 mg, t_R= 59.2 min)로 재정제하였다. JV12_3_11 (90.5 mg)에 Sephadex LH-20을 사용하여 MeOH 100% 용매를 전개시켜서 총 8개의 분획을 얻었다. 이 중에서 JV12_3_11D (12.0mg)에서 HPLC (Optimapak C18-51002510, S-10 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 (FA 0.1%) 60%→80%, 4ml/min, 199 nm)를 실시하여 화합물 **8** (1.1 mg, t_R= 10.2 min)을 분리하였다. 화합물 **4** (4.4 mg, t_R= 23.0 min)는 JV12_3_11F (17.7 mg)에서 53%에서 82% acetonitrile (formic acid 0.1% 포함)조건으로 HPLC (Optimapak C18-51002510, S-10 μm, 250 x 10 mm, 4ml/min, 199 nm) 방법을 통해 분리하였다. 화합물 **11** (0.7 mg, t_R= 29.7 min)은 소분획 SS_12_3_11G에서 preparative HPLC (Optimapak C18-51002510, S-10 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 (0.1% FA) 50%→55%, 4ml/min, 200 nm) 실험으로 분리되었다. 그리고 이 때 같이 분리된 화합물 (1.0 mg, t_R= 24.8 min)은 화합물 **2**와 동일한 화합물임을 확인하였다.

JV13은 $CHCl_3$과 MeOH 이동상 (100:1→0:1) silica gel open column chromatography를 실시하여 24개의 소분획 (JV13_1-SS13_24)으로 나누었고, 그 중 JV13_11 (35.4 mg) 소분획물은 HPLC (Phenomenex C18, S-5 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 72%, 2

ml/min, 210 nm)를 이용하여 화합물 **3** (14.9 mg, t_R= 39.7 min)를 분리하였다. JV13_15 (103.4 mg)는 (MeOH:H_2O, 50:50→100:0) RP-MPLC를 실시하여 9개의 소 분획 (JV13_15_1-JV13_15_9)으로 나누었고, JV13_15_5 (26.4 mg) 소분획물은 HPLC (Phenomenex C18, S-5 μm, 250 x 10 mm, CH_3CN 수용액 16%, 3ml/min, 366 nm)를 이용하여 화합물 **18** (16.8 mg, t_R= 30.5 min)을 분리하였다. JV13_19 (232 mg) 소분획물은 (MeOH:H_2O, 30:70→100:0) RP-MPLC를 실시하여 8개의 소분획 (JV13_19_1-JV13_19_8)을 얻었고, 그 중 JV13_19_2 (45.3 mg)소분획물은 HPLC (Phenomenex C18, S-5 μm, 250 x 10 mm, MeOH 수용액 54%, 2 ml/min, 254 nm)를 실시하여 화합물 **17** (13.8 mg, t_R= 22.8 min)을 분리하였다.



Scheme 1. Isolation scheme of compounds from *Jacobaea vulgaris*

2.2.2. 분리한 화합물의 화학적 · 분광학적 특성

Jacovulgarin A (**1**)

흰색 무정형 분말

$C_{20}H_{24}O_5$

$[\alpha]_D^{20}$ −93.10 (*c* 0.5, MeOH)

ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) 184 (+2.76), 206 (−2.48) nm

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.43), 233 (*sh*) (3.79), 281 (3.52) nm

IR (neat) ν_{max} 3290, 2924, 1614, 1514, 1448, 1362, 1235, 1138, 1090, 1028, 896, 768 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 343.1552 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_5$, 343.1545)

^1H NMR data (400 MHz, DMSO−d_6) see Table 1

^{13}C NMR data (125 MHz, DMSO−d_6) see Table 1

3'−Dehyroxy gancaonin R (**2**)

흰색 침상형 고체

$C_{24}H_{30}O_3$

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.67), 230 (*sh*) (4.33), 280 (3.95) nm

IR (neat) ν_{max} 3383, 2973, 2929, 1604, 1514, 1448, 1371, 1230, 1057, 833 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 365.2108 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{29}O_3$, 365.2117)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 1

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 1

4'−Methoxy−gancaonin R (**3**)

노란색 무정형 고체

$C_{25}H_{32}O_4$

UV λmax (log ε) 213 (4.50) nm

IR (neat) ν_{max} 3268, 2980, 2891, 1609, 1514, 1406, 1286, 1091, 1028 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 397.2375 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{25}H_{33}O_4$, 397.2379)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 1

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 1

Jacovulgarin B (**4**)

흰색 무정형 분말

$C_{26}H_{32}O_5$

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.67), 282 (4.05) nm

IR (neat) ν_{max} 3411, 2974, 2927, 2866, 1738, 1602, 1518, 1442, 1370, 1207, 1059 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 423.2177 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{31}O_5$, 423.2171)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 1

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 1

Jacovulgarin C (**5**)

흰색 무정형 분말

$C_{19}H_{22}O_4$

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (4.14), 264 (3.96) nm

IR (neat) ν_{max} 3384, 2971, 2941, 2893, 1599, 1463, 1383, 1272, 1120 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 315.1591 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{19}H_{23}O_5$, 315.1599)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 2

^{13}C NMR data (200MHz, MeOH−d_4) see Table 2

Jacovulgarin D (**6**)

노란색 무정형 분말

$C_{20}H_{24}O_5$

$[\alpha]_D^{20}$ −103.17 (*c* 0.44, MeOH)

ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) 197 (+5.81), 223 (−6.38) nm

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.87), 232 (*sh*) (4.33), 280 (4.03) nm

IR (neat) ν_{max} 3386, 2941, 2911, 2812, 2779, 1656, 1607, 1513, 1452, 1348, 1278, 1137, 1025, 1002, 766 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 343.1552 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_5$, 343.1545)

^1H NMR data (800MHz, DMSO−d_6) see Table 2

^{13}C NMR data (100MHz, DMSO−d_6) see Table 2

3−Dehyroxy gancaonin T (**7**)

갈색 무정형 분말

$C_{24}H_{30}O_4$

$[\alpha]_D^{20}$ +165.2 (c 0.2, MeOH)

ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) 206 (+1.64), 244 (−0.28) nm

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (5.02), 284 (4.17) nm

IR (neat) ν_{max} 3387, 2976, 2870, 2837, 1604, 1516, 1458, 1359, 1232, 1093, 1056, 1011, 889 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 381.2075 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{29}O_4$, 381.2066)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 2

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 2

3−Acetyl gancaonin T (**8**)

갈색 무정형 분말

$C_{26}H_{32}O_6$

$[\alpha]_D^{20}$ −93.64 (*c* 0.5, MeOH)

ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) 198 (+11.33), 222 (−16.24) nm

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (5.00), 280 (4.34) nm

IR (neat) ν_{max} 3310, 2986, 2884, 1742, 1601, 1515, 1377, 1229, 1148, 1094 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 439.2122 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{31}O_6$, 439.2121)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 2

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 2

Jacovulgarin E (**9**)

갈색 무정형 고체

$C_{24}H_{30}O_4$

$[\alpha]_D^{20}$ +134.4 (c 0.2, MeOH)

ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$): 186 (+16.12), 211 (−2.69) nm

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 201 (4.89), 231 (*sh*) (4.50), 287 (4.11) nm

IR (neat) ν_{max} 3381, 2965, 2932, 1607, 1513, 1455, 1377, 1244, 1165, 1078 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 381.2065 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{29}O_4$, 381.2066)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 3

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 3

Jacovulgarin F (**10**)

갈색 무정형 고체

$C_{25}H_{32}O_5$

$[\alpha]_D^{20}$ − 75.14 (*c* 0.23, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.99), 232 (sh) (4.49)284 (4.20) nm

IR (neat) ν_{max} 3416, 2973, 2937, 1607, 1512, 1455, 1370, 1273, 1162, 1077 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 411.2184 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{25}H_{31}O_5$, 411.2171)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 3

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 3

Jacovulgarin G (**11**)

갈색 무정형 분말

$C_{23}H_{24}O_5$

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.60), 256(4.16) 291 (4.01), 325 (3.99) nm

IR (neat) ν_{max} 3328, 2926, 1752, 1610, 1518, 1365, 1230, 1080, 891 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 379.1540 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{23}H_{23}O_5$, 379.1545)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 3

^{13}C NMR data (125MHz, MeOH−d_4) see Table 3

8−Prenylnaringenin trans−alcohol (**12**)

노란색 무정형 고체

$C_{20}H_{20}O_6$

$[\alpha]_D^{20}$ −114.58 (*c* 0.5, MeOH)

ECD (MeOH) λmax ($\Delta\varepsilon$) 187 (−3.34), 217 (+11.31), 290 (−15.00), 315 (+3.20) nm

UV λ_{max} (log ε) 202 (4.62), 208 (*sh*) (4.55), 293 (4.29) nm

IR (neat) ν_{max} 3282, 2932, 1637, 1610, 1518, 1439, 1382, 1303, 1268, 1175, 1078 cm^{-1}

HRESIMS *m/z* 355.1192 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{19}O_6$, 355.1182)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 3

^{13}C NMR data (125MHz, MeOH−d_4) see Table 3

Quercetin (**13**)

노란색 무정형 분말

$C_{15}H_{10}O_7$

UV (MeOH) λmax (log ε) 204 (4.36) 255 (4.18), 372 (4.18) nm

HRESIMS *m/z* 301.0337 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{15}H_9O_7$, 301.0348)

^1H NMR data (500MHz, MeOH−d_4) see Table 4

^{13}C NMR data (125MHz, MeOH−d_4) see Table 4

Isoquercetin (**14**)

노란색 무정형 분말

$C_{21}H_{20}O_{12}$

$[\alpha]_D^{20}$ −97.44 (*c* 0.5, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 205 (4.56), 258 (4.41), 357 (4.34) nm

HRESIMS *m/z* 463.0879 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{21}H_{19}O_{12}$, 463.0877)

^1H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 4

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 4

Chrysoeriol (**15**)

갈색 무정형 분말

$C_{16}H_{12}O_6$

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (3.81), 247 (3.46), 266 (3.43), 346 (3.56) nmHRESIMS *m/z* 301.0699 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{16}H_{13}O_6$, 301.0707)

^{1}H NMR data (800MHz, DMSO−d_6) see Table 4

^{13}C NMR data (200MHz, DMSO−d_6) see Table 4

8−Prenylnaringenin (16)

흰색 무정형 분말

$C_{20}H_{20}O_5$

$[\alpha]_D^{20}$ −94.4 (*c* 0.5, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.67), 230(*sh*) (4.33), 280 (3.95) nm

ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) 219 (+2.69), 291 (−5.17), 293 (+1.15) nm

HRESIMS *m/z* 339.1235 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{19}O_5$, 339.1232)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 5

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 5

6−C−Prenyl luteolin (17)

노란색 무정형 고체

$C_{20}H_{18}O_6$

UV λ_{max} (log ε) 201 (4.41), 268 (3.81) nm

HRESIMS *m/z* 353.1021 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{17}O_6$, 353.1025)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 5

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see table 5

6−Prenylapigenin (18)

노란색 무정형 고체

$C_{20}H_{18}O_5$

UV λ_{max} (log ε) 201 (3.61), 274 (3.16), 332 (3.09) nm

HRESIMS *m/z* 339.1232 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{20}H_{19}O_5$, 339.1232)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 5

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 5

4−(3,5−dihydroxy−2−(3−methylbut−2−en−1−yl)phenethyl)benzene−1,2−diol (**19**)

노란색 무정형 고체

$C_{19}H_{22}O_4$

UV λ_{max} (log ε) 203 (4.66), 231 (*sh*) (4.18), 278 (3.82), 310 (3.61) nm

HRESIMS *m/z* 315.1593 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{19}H_{23}O_4$, 315.1591)

^{1}H NMR data (400MHz, MeOH−d_4) see Table 6

^{13}C NMR data (100MHz, MeOH−d_4) see Table 6

Methyl 3,4−di−*O*−caffeoyl quinate (**20**)

노란색 무정형 분말

$C_{26}H_{26}O_{12}$

$[\alpha]_D^{20}$ −246.36 (*c* 0.5, MeOH)

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 201 (4.22), 216 (4.19), 245 (4.03), 298 (*sh*) (4.13), 332 (4.27) nm

HRESIMS *m/z* 529.1340 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{25}O_{12}$ 529.1346)

^{1}H NMR data (400MHz, DMSO−d_6) see Table 7

^{13}C NMR data (100MHz, DMSO−d_6) see Table 7

Table 1. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds **1–4**

No.	1		2		3		4	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	141.1	–	141.6	–	141.5	–	142.1	–
2	113.7	–	119.3	–	119.2	–	123.9	–
3	155.3	–	154.7	–	154.6	–	149.0	–
4	99.4	6.13, d (2.4)	101.7	6.24 s	101.6	6.24 s	108.1	6.36, s
5	154.7	–	154.7	–	154.6	–	155.1	–
6	105.9	6.09, d (2.4)	119.3	–	119.2	–	126.3	–
7	31.0	2.68, m	26.0	3.27, d (6.3)	25.9	3.27 d (6.6)	26.6	3.16, d (6.3)
		2.54, m						–
8	73.8	4.08, dd (8.3, 4.3)	126.5	5.06, d (6.4)	126.4	5.06 t (6.7)	125.1	4.93, m
9	147.8	–	130.4	–	130.5	–	131.9	–
10	108.1	4.79, s	25.9	1.65, s	26.0	1.66, s	25.9	1.65, d (1.3)
		4.68, s						
11	16.9	1.72, s	26.0	3.27, d (6.3)	18.2	1.70, s	18.3	1.72, d (1.3)
12	–	–	126.5	5.06, d (6.4)	25.9	3.27, d (6.6)	26.2	3.34, d (6.3)

13	–	–	130.4	–	126.4	5.06, t (6.7)	125.3	5.07, m
14	–	–	25.9	1.65, s	130.5	–	131.4	–
15	–	–	18.2	1.72 s	26.0	1.66, s	26.0	1.67, d (1.3)
16	–	–	26.0	3.27, d (6.3)	18.2	1.70, s	18.3	1.74, d (1.3)
α	34.2	2.75, m	33.1	2.71, m	32.8	2.72, m	33.0	2.78, m
		2.61, m						
β	35.3	2.60, m	37.4	2.61, m	37.6	2.58, m	37.4	2.59, m
1'	133.6	–	134.8	–	136.9	–	135.1	–
2'	114.5	6.67, d (2.1)	130.1	6.99, d (8.5)	116.3	6.68, d (2.1)	116.4	6.62, d (2.0)
3'	145.2	–	116.1	6.69, d (8.5)	147.4	–	146.2	–
4'	144.6	–	156.7	–	147.2	–	144.7	–
5'	111.2	6.81, d (8.1)	116.1	6.69, d (8.5)	113.0	6.82, d (8.2)	116.3	6.67, d (8.0)
6'	117.3	6.58, dd (8.1, 2.1)	130.1	6.99, d (8.5)	120.3	6.63, dd (8.2, 2.1)	120.5	6.49, dd (8.0, 2.0)
3−COO	–	–	–	–	–	–	171.8	–
3−$COOCH_3$	–	–	–	–	–	–	20.9	2.22, s
4'−OCH_3	54.6	3.72, s	–	–	56.5	3.82, s	–	–

1

Table 2. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds **5–8**

No.	5		6		7		8	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	143.1	–	141.3	–	141.1	–	141.9	–
2	112.0	–	109.3	–	120.7	–	125.1	–
3	156.0	–	153.4	–	155.6	–	149.9	–
4	102.8	6.02, d (2.5)	101.1	5.98, d (2.4)	102.6	6.14 s	110.2	6.34, s
5	157.1	–	156.3	–	152.8	–	153.1	–
6	109.4	6.20, d (2.5)	108.3	6.19, d (2.4)	111.0	–	118.3	–
7	20.3	2.48, t (6.8)	28.1	2.71, dd (16.1, 5.7)	25.8	3.28, overlapped	26.5	3.20, d (6.3)
	25.6	3.24, d (6.5)		2.33, dd (16.1, 8.5)				
8	34.2	1.72, t (6.8)	68.8	3.56, dd (8.4, 5.7)	126.2	5.07, t (6.4)	124.8	4.93, overlapped
9	74.5	–	76.2	–	130.6	–	132.1	–
10	27.0	1.24, s	19.6	1.07, s	26.0	1.66, s	25.8	1.66, s
11	27.0	1.24, s	25.8	1.24, s	18.2	1.74, s	18.2	1.73, s

12	–	–	–	–	30.1	2.84, dd (16.0, 5.6)	30.3	2.88, dd (16.6, 5.5)
						2.52, dd (16.0, 7.8)		2.56, m
13	–	–	–	–	71.4	3.69, dd (7.8, 5.6)	70.8	3.73, dd (7.4, 5.5)
14	–	–	–	–	77.0	–	77.5	–
15	–	–	–	–	20.4	1.16, s	20.8	1.20, s
16	–	–	–	–	26.0	1.28, s	25.8	1.29, s
α	36.2	2.70 m	34.6	2.60, m	32.8	2.74, m	32.7	2.81, m
β	37.6	2.65 m	35.4	2.60, m	36.4	2.64, m	36.4	2.61, m
1'	135.0	–	134.4	–	134.4	–	134.7	–
2'	116.7	6.56, d (2.1)	115.7	6.67, d (2.1)	130.3	6.99, d (8.3)	116.6	6.58, d (2.1)
3'	146.1	–	146.5	–	116.2	6.68, d (8.3)	146.2	–
4'	144.0	–	145.9	–	156.6	–	144.6	–
5'	116.3	6.64, d (8.0)	112.4	6.80, d (8.2)	116.2	6.68, d (8.3)	116.4	6.66, d (8.0)
6'	120.8	6.46, d (8.1, 2.0)	118.6	6.57, dd (8.1, 2.1)	130.3	6.99, d (8.3)	120.7	6.49, dd (8.0, 2.1)
3-COO	–	–	–	–	–	–	171.6	–

3−$COOCH_3$	−	−	−	−	−	−	20.9	2.22, s
4'−OCH_3	−	−	55.7	3.72 (3H, s)	−	−	−	−

Table 3. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 9–12

No.	9		10		11		12	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	138.2	–	138.2	–	135.0	–	–	–
2	119.2	–	118.3	–	127.8	–	79.6	5.32 dd (12.9, 2.9)
3	156.4	–	156.4	–	148.2	–	43.2	2.70 dd (17.1, 3.0)
								3.08 dd (17.1, 12.9)
4	95.9	6.11, s	95.9	6.12, s	104.8	7.09, s	197.4	–
5	159.3	–	159.3	–	154.1	–	162.5	–
6	118.3	–	119.2	–	126.9	–	95.6	5.93 s
7	25.6	3.24, d (6.5)	25.6	3.25, d, (6.4)	26.7	3.27, d (6.0)	165.3	–
8	126.4	5.07, t (6.5)	126.4	5.08, t, (6.5)	124.6	4.94, overlapped	107.6	–
9	130.5	–	130.5	–	132.2	–	160.9	–
10	26.0	1.66, s	26.0	1.66, s	25.8	1.67, s	102.5	–
11	18.2	1.74, s	18.2	1.74, s	18.3	1.76, s	21.3	3.24 dd (7.5, 3.2)

12	30.6	2.78, d (8.8)	30.6	2.80, dd (8.8, 4.3)	106.3	6.79, d (2.2)	124.2	5.44 t (7.5)
13	90.5	4.42, t (8.8)	90.5	4.43, t (8.8)	146.7	7.69, d (2.2)	134.5	–
14	72.7	–	72.8	–	–	–	68.2	3.86 s
15	25.2	1.16, s	25.2	1.16 *	–	–	13.0	1.77 s
16	25.0	1.16, s	25.1	1.15 *	–	–	–	–
α	34.5	2.70, m	34.4	2.71, m	33.9	3.07, m	–	–
β	36.4	2.68, m	36.7	2.65, m	37.4	2.72, m	–	–
1'	134.3	–	136.5	–	134.6	–	130.5	–
2'	130.5	6.93, d (8.4)	116.7	6.61, d (2.0)	116.7	6.57, d (2.0)	128.2	7.33 d (8.5)
3'	116.1	6.66, d (8.4)	147.4	–	146.2	–	115.5	6.82 d (8.5)
4'	156.6	–	147.4	–	144.6	–	158.2	–
5'	116.1	6.66, d (8.4)	112.8	6.80, d (8.2)	116.4	6.65, d (8.0)	115.5	6.82 d (8.5)
6'	130.5	6.93, d (8.4)	120.7	6.56, d (8.2, 2.0)	120.8	6.45, d (8.0, 2.0)	128.2	7.33 d (8.5)
3-COO	–	–	–	–	171.8	–	–	–
3-$COOCH_3$	–	–	–	–	20.9	2.27, s	–	–
4'-OCH_3	–	–	56.5	3.81, s	–	–	–	–

Table 4. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds 13–15

No.	13		14		15	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	–	–	–	–	–	–
2	147.3	–	158.2	–	163.3	–
3	135.7	–	134.8	–	102.8	6.84, s
4	175.8	–	178.7	–	181.4	–
5	161.1	–	162.3	–	161.3	–
6	97.9	6.08 d (2.0)	99.2	6.20 s	99.1	6.14, s
7	164.4	–	165.5	–	165.2	–
8	93.0	6.29, d (2.1)	94.0	6.39 s	94.1	6.45, s
9	156.8	–	157.7	–	157.3	–
10	102.9	–	104.9	–	105.0	–
1'	122.7	–	122.3	–	121.2	7.53, m
2'	114.9	7.64, d (2.2)	116.8	7.71, d (2.1)	110.0	–
3'	144.7	–	145.2	–	148.0	–

4'	146.5	–	149.1	–	149.8	–
5'	114.8	6.79, d (8.5)	115.2	6.87, d (8.5)	115.7	6.93, d (8.4)
6'	120.2	7.54, dd (8.5, 2.2)	122.4	7.59, dd (8.4, 1.9)	120.2	7.54–7.55, m
1''	–	–	104.9	5.25, d (7.5)	–	–
2''	–	–	75.0	3.36–3.52, m	–	–
3''	–	–	77.3	3.36–3.52, m	–	–
4''	–	–	70.4	3.35, s	–	–
5''	–	–	77.6	3.22, m	–	–
6''	–	–	61.8	3.71, dd (11.9, 5.3)	–	–
				3.57, dd (11.9, 5.3)		
3–OCH_3	–	–	–	–	55.8	3.88, s

Table 5. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compounds **16–18**

No.	**16**		**17**		**18**	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	–	–	–	–	–	–
2	80.5	5.31, dd (13.0, 3.0)	163.7	–	163.7	–
3	44.3	3.10, dd (17.1, 13.1)	103.8	6.51, s	103.8	6.54, s
		2.68, dd (17.1, 2.8)				
4	197.9	–	183.9	–	183.9	–
5	162.6	–	159.9	–	162.6	–
6	95.5	5.93, s	113.2	–	113.2	–
7	162.6	–	166.0	–	165.9	–
8	109.7	–	94.1	6.46, br s	94.1	6.45, s
9	166.1	–	157.2	–	157.2	–
10	103.2	–	105.1	–	105.1	–
11	21.9	3.20, d (7.1)	22.3	3.29 overlapped	22.3	3.29 overlapped

12	124.0	5.19, t (7.2)	123.4	5.23, tt (7.4, 1.5)	123.4	5.23, tt, (7.21, 1.3)
13	131.6	–	132.1	–	132.0	–
14	26.0	1.66, s	26.0	1.66, d (1.4)	26.0	1.66, s
15	17.9	1.75, s	17.9	1.78, d (1.4)	17.9	1.78, s
1'	131.3	–	120.2	–	123.4	–
2'	129.1	7.31, d (8.6)	114.1	7.36 m	129.3	7.80, d (8.8)
3'	116.3	6.81, d (8.6)	147.0	–	117.1	6.91, d (8.8)
4'	159.1	–	150.9	–	159.1	–
5'	116.3	6.81, d (8.6)	116.7	6.89, d (8.8)	117.1	6.91, d (8.8)
6'	129.1	7.31, d (8.6)	123.8	7.36 m	129.3	7.80, d (8.8)

Table 6. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compound **19**

No.	19	
	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	143.5	–
2	119.0	–
3	157.1	–
4	101.3	6.15, d (2.6)
5	156.6	–
6	108.6	6.13 d (2.5)
7	25.3	3.22 d (6.5)
8	126.0	5.05 t (6.4)
9	130.6	–
10	25.9	1.65, s
11	18.1	1.72, s
12	–	–

Table 7. ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compound **20**

No.	20	
	δ_C	δ_H (J in Hz)
1	73.1	–
2	36.0	2.20–2.31, m
		1.99, dd (13.6, 3.8)
3	67.8	5.26, m
4	72.0	4.96, dd (6.7, 3.0)
5	65.2	4.14, dt (7.7, 3.5)
6	37.7	2.20–2.31, m
		1.88, dd (13.2, 8.6)
1'	125.2	–
2'	114.8	7.04, s
3'	145.8	–
4'	148.8*	–

13	–	–
14	–	–
15	–	–
16	–	–
α	36.8	2.68, m
β	38.3	2.64, m
1'	135.3	–
2'	116.6	6.61, d (2.1)
3'	146.1	–
4'	144.3	–
5'	116.2	6.66, d (8.0)
6'	120.6	6.48, dd (8.0, 2.1)

5'	115.9	6.76, d (8.3)
6'	121.5	6.99, m
7'	145.8	7.41, d (15.9)
8'	113.2	6.13, d (15.9)
9'	165.3	–
1''	125.4	–
2''	114.9	7.04, s
3''	145.8	–
4''	148.9*	–
5''	115.9	6.76, d (8.3)
6''	121.4	6.99, m
7''	145.6	7.50, d 15.9
8''	113.8	6.26, d (15.9)
9''	166.0	–
1-COO	173.4	–
1-$COOCH_3$	52.0	3.59 (3H, s)

2.2.3. ECD Calculation을 통한 화합물의 절대 구조 해석

화합물 **1, 6, 7, 8, 9, 10, 12**의 평면 구조에서 가능한 입체구조를 ChemBio3D Ultra 13.03를 통해 생성한 Molecular mechanics force-field (MMFF) 94 minimization 알고리즘을 사용하였으며, Spartan '16 software로 각각의 구조에 대한 conformation search를 실행하였다. 생성된 conformer 중에서 화합물 **1, 6, 7, 8, 12**의 Cumulative Bolizman Weight 0.95 이하인 conformer를 대상으로, 화합물 **9, 10**의 경우에는 Cumulative Bolizman Weight 0.95 이하인 conformer 수가 70여 개 존재하여서, Boltzmann distribution 1% 이상인 경우를 선택하여 geometrical optimization을 진행하였다. 그리고 Gaussian 16 software를 활용하여 gas phase에서 B3LYP/6-31+G(d,p) 수준으로 각각의 conformer의 density functional theory (DFT)를 계산하여 optimization을 진행하였다. Optimized conformer는 CAM-B3LYP/6-31+G(d,p) (N state=20) 수준과 methanol solvent CPCM model인 time-dependent DFT (TDDFT) method 이용하여서 계산되었다. 각각의 conformer의 Boltzman 분포 함수를 평균화하여 종합적인 ECD curve를 완성하였고, SpecDis 1.71 software를 이용하여 calculated ECD spectra의 half-bandwidth (0.30 eV **-1**, 0.28 eV **-6**, 0.30 eV **-7**, 0.25 eV **-8**, 0.3 eV **-9**, 0.25 eV **-10**, 0.30 eV **-12**)와 UV correction (14 nm **-1**, 13 nm **-6**, 13 nm **-7**, 8 nm **-8**, 3 nm **-9**, 18 nm **-10**, 7 nm **-12**)를 조정하여서 얻은 spectra와 실험을 통해 확인한 ECD spectrum과 비교하여 화합물 **1, 6, 7, 8, 9, 10, 12**의 절대구조를 결정하였다.

제 3 장 연구 결과 및 고찰

제 1 절 *Jacobaea vulgaris*에서 분리된 화합물의 화학 구조 해석

3.1.1. 화합물 1

화합물 **1**은 흰색 무정형 분말로 분리되었으며, HRESIMS negative mode에서 측정하여 *m/z* 343.1552 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_5$, 343.1545) 값을 얻었고 분자식은 $C_{20}H_{24}O_5$로 확인하였다. IR spectrum은 3290, 2924, 1614, 1514, 1448, 1362, 1235, 1138, 1090, 1028, 896, 768 cm^{-1}이며, 특징적인 흡수띠들로 구조적 정보들을 알 수 있었다. 3290 cm^{-1} strong band는 hydroxy group을, 1614, 1514 cm^{-1} 신축 흡수 띠는 방향족 고리 부분을, 1448 cm^{-1} 과 1371 cm^{-1} 굽힘 흡수띠는 각각 methylene, methyl을 나타내는 것을 확인할 수 있다. UV spectrum을 통해 λ_{max} (log ε) 202 (4.43), 233 (*sh*) (3.79), 281 (3.52) nm 값을 가진다. ^{1}H NMR spectrum에서 약 6.0~7.0 ppm 구간에 존재하는 aromatic proton signals를 통해서 aromatic ring의 substitution pattern을 알 수 있었다. Trisubstituted aromatic ring에 결합된 3개의 수소 δ_H 6.81 (1H, d, J = 8.1 Hz, H−5'), 6.67 (1H, d, J = 2.1 Hz, H−2'), 6.58 (1H, dd, J = 8.1, 2.1 Hz, H−6') 와 tetrasubstitution pattern ring의 *meta* 위치에 있는 δ_H 6.13 (1H, d, J = 2.4 Hz, H−4), 6.09 (1H, d, J = 2.4 Hz, H−6) 수소가 있다는 사실을 확인하였다. 3개의 methylene 수소가 2.54−2.80 ppm에서 중첩되어 나타났고, δ_H 3.72 (3H, s, 4'−OCH_3) methoxy group을 확인했으며, methoxy 수소는 ^{13}C NMR spectrum과 HSQC spectrum을 통해 δ_C 54.6 (4'−O<u>C</u>H_3) 결합되어 있으며, B ring 위에 있는 δ_H 3.72 (4'−OC<u>H_3</u>)/δ_C 144.6 (C−4')의 HMBC 상관관계로

methoxy 위치를 확정하였다. ^{13}C NMR spectroscopic data와 DEPT-135 spectrum를 통해 이 화합물의 탄소는 1개의 methyl group, 1개의 methoxy group, 4개의 methylene group, 6개의 methine group과 8개의 quaternary carbon으로 총 20개의 탄소로 존재한다는 것을 확인하였고, methylene group 중에서 exo-methylene인 δ_H 4.79 (1H, s, H-10), 4.68 (1H, s, H-10)/δ_C 108.1 (C-10)을 확인하였다. HMBC spectrum에서 δ_H 6.67 (H-2'), 6.58 (H-6')/δ_C 35.3 (C-β)와 δ_H 6.09 (H-6)/δ_C 34.2 (C-α)의 상관관계를 확인하여 두 개의 aromatic ring이 methylene으로 연결된 dihydrostilbene 화합물임을 알 수 있었다. δ_H 6.81 (H-5')/δ_C 145.2 (C-3'), δ_H 6.67 (H-2')/δ_C 144.6 (C-4'), δ_H 6.13 (H-4)/δ_C 155.3 (C-3), 154.7 (C-5) HMBC 상관관계로 δ_C 155.3 (C-3), 154.7 (C-5), 145.2 (C-3'), 144.6 (C-4') carbon signal은 산소가 연결된 aromatic carbon임으로 dihydropiceatannol 기본 골격임을 알 수 있었다. δ_H 4.79 (H-10), 4.68 (H-10), 1.72 (H-11) 수소는 δ_C 147.8 (C-9), 73.8 (C-8)와 HMBC 상관관계를 가지고, δ_H 4.08 (H-8)/δ_H 2.68, 2.54 (H-7) 상관관계는 COSY spectrum에서 확인하여, δ_H 4.08 (H-8)/δ_C 113.7 (C-2), 31.0 (C-7)간의 HMBC 상관관계를 통해 2-hydroxy-3-methylbut-3-en-1-yl moiety를 A ring의 C-2번 위치로 특정하였다. 그리고 C-8의 입체구조를 결정하기 위해 ECD spectrum의 측정으로 184 nm에서 positive Cotton effect와 206 nm에서 negative Cotton effect를 확인한 결과와 calculated ECD spectrum (8*R*, 8*S*)를 비교하여 절대구조 8*S*로 규명할 수 있었다. 위의 결과로 화합물 **1**의 구조를 (*S*)-4-(2-hydroxy-3-methylbut-3-en-1-yl)-5-(3-hydroxy-4-methoxyphenethyl)benzene-1,3-diol로 최종 결정하였으며, jacovulgarin A로 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 새롭게 분리보고된 화합물이다.

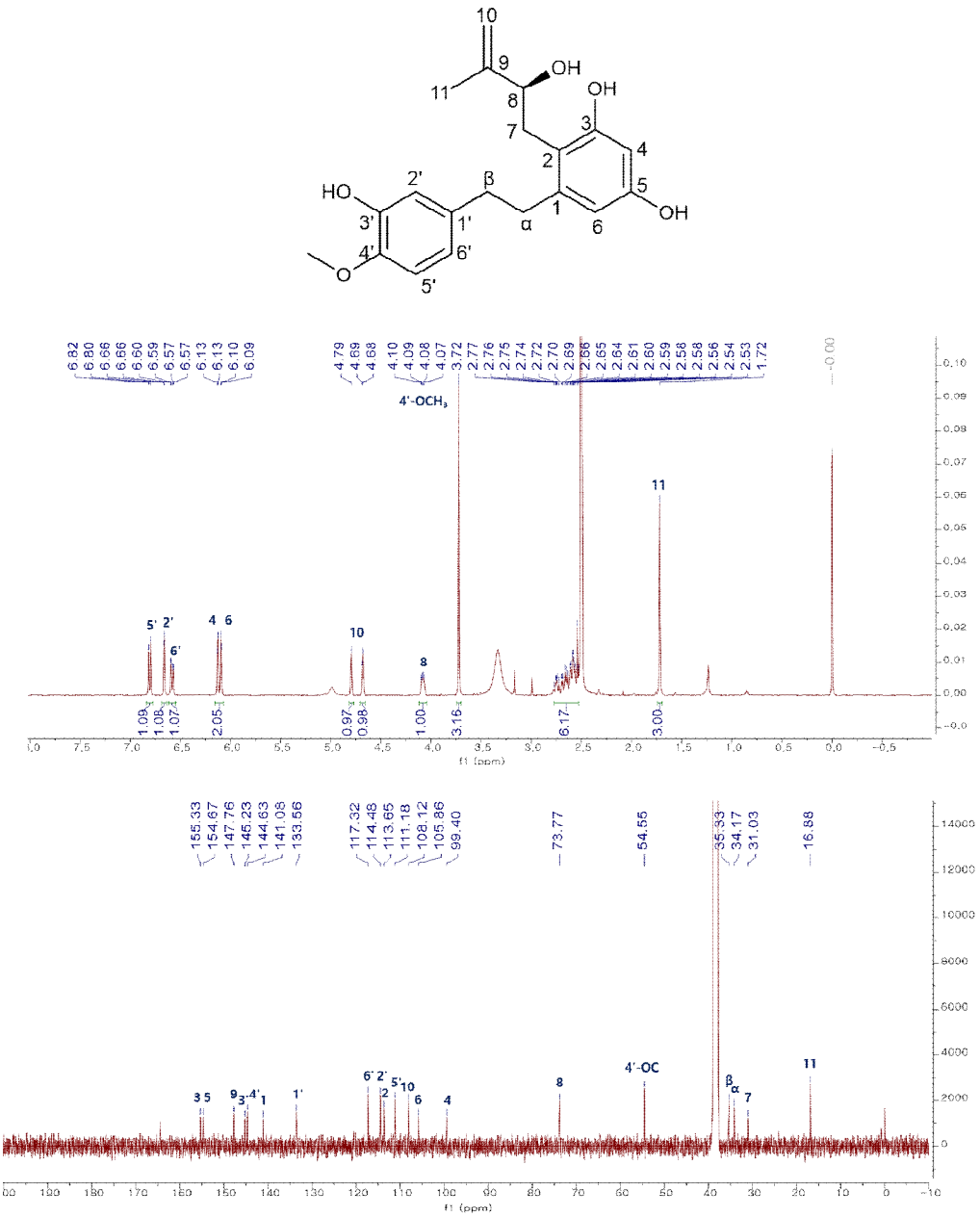


Figure 3. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **1** (recorded at 400/125 MHz, DMSO−d_6)

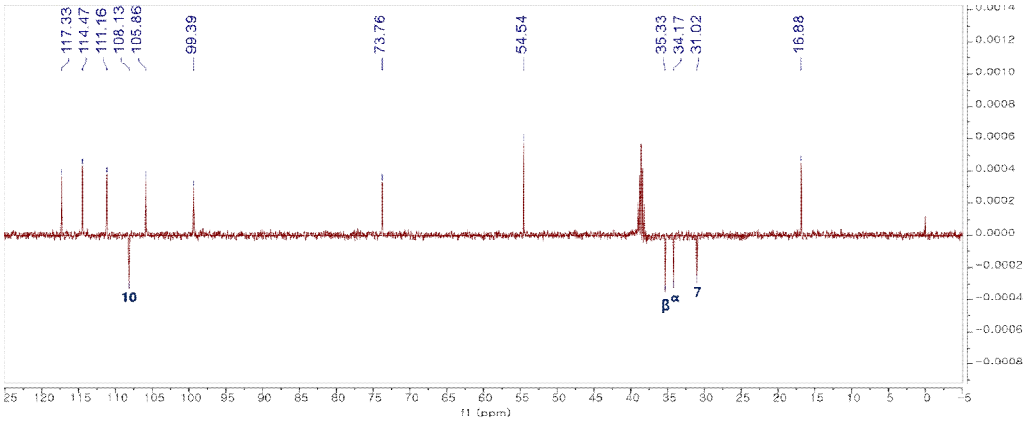


Figure 4. DEPT−135 spectrum of compound **1** (recorded at 100 MHz, DMSO−d_6)

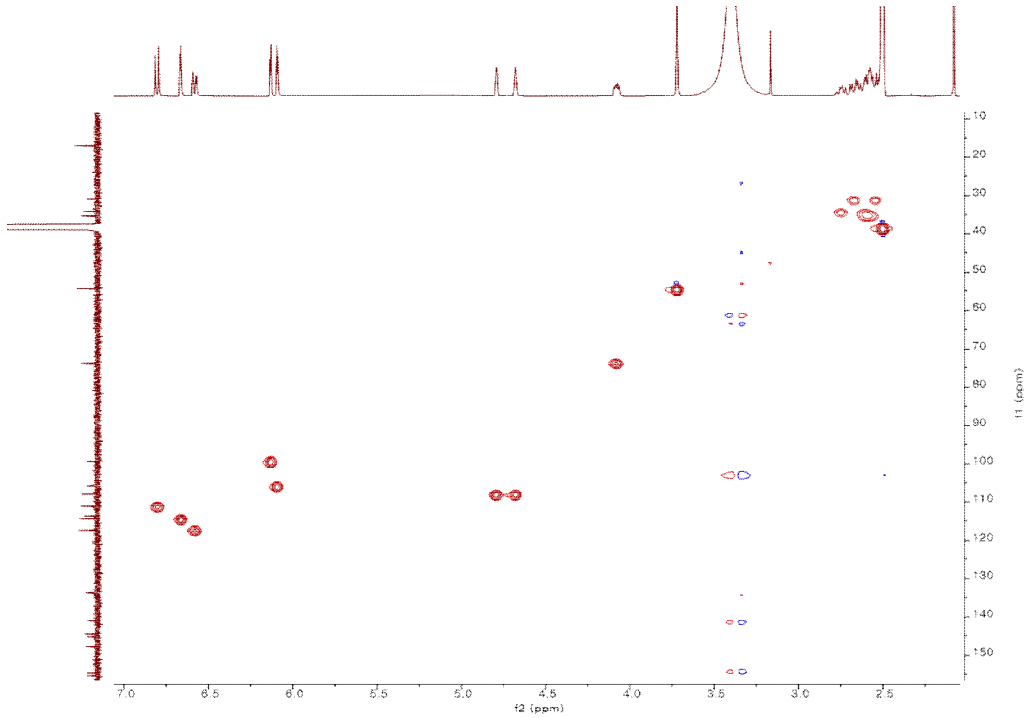


Figure 5. HSQC spectrum of compound **1** in DMSO−d_6

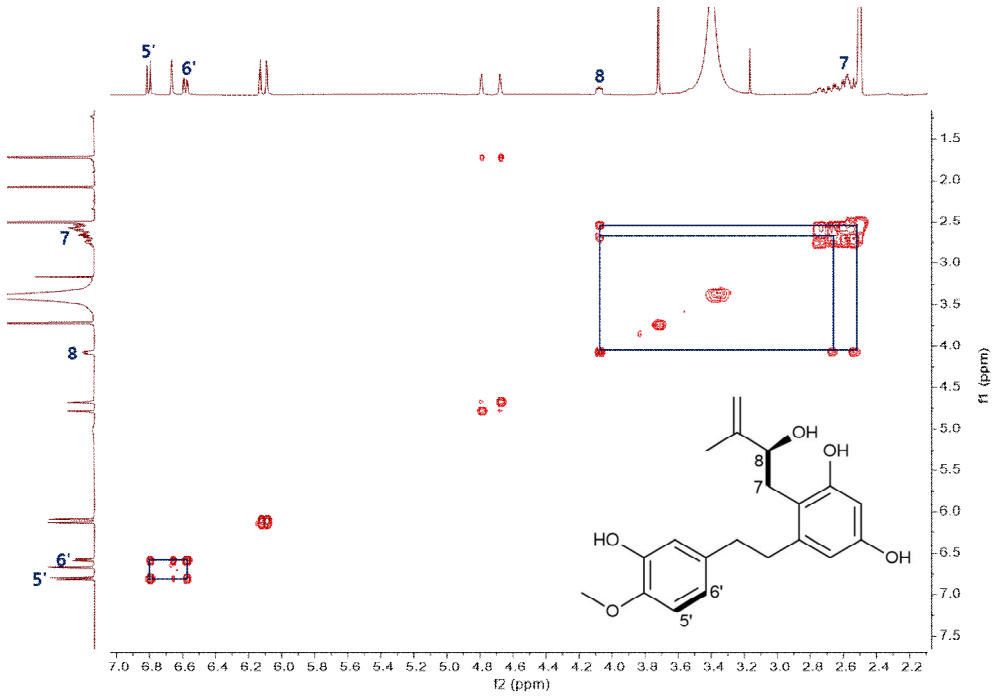


Figure 6. Key COSY correlations of compound **1** in DMSO−d_6

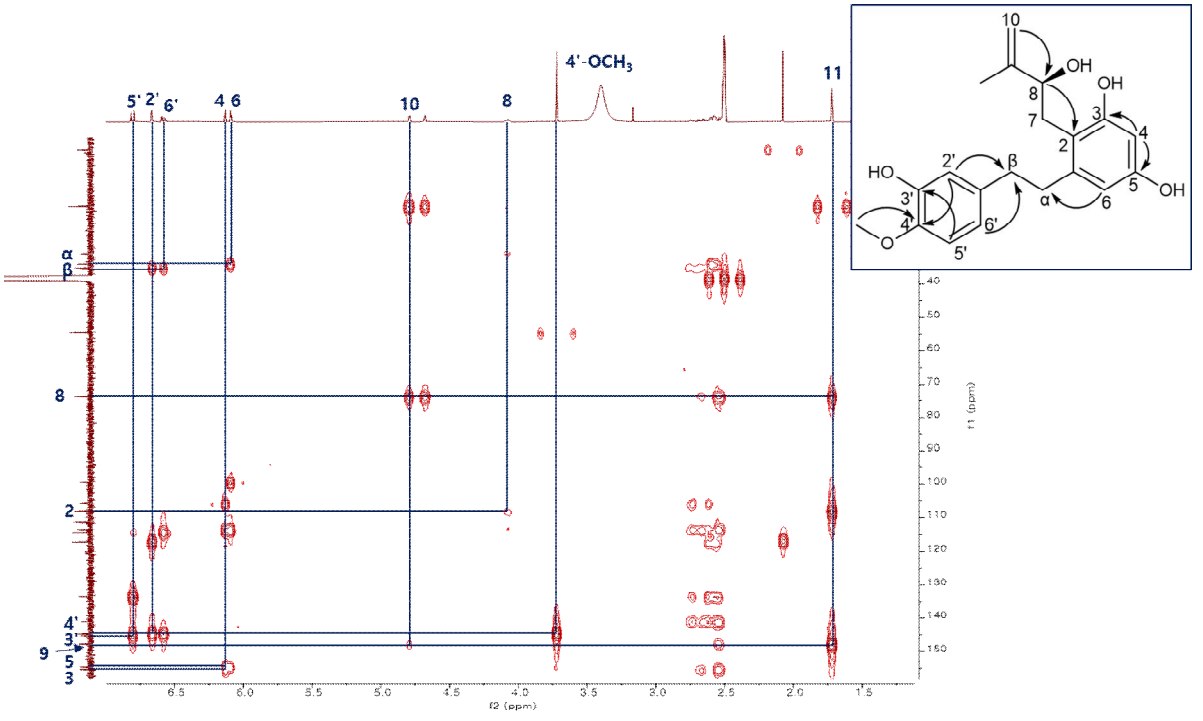


Figure 7. Key HMBC correlations of compound **1** in DMSO−d_6

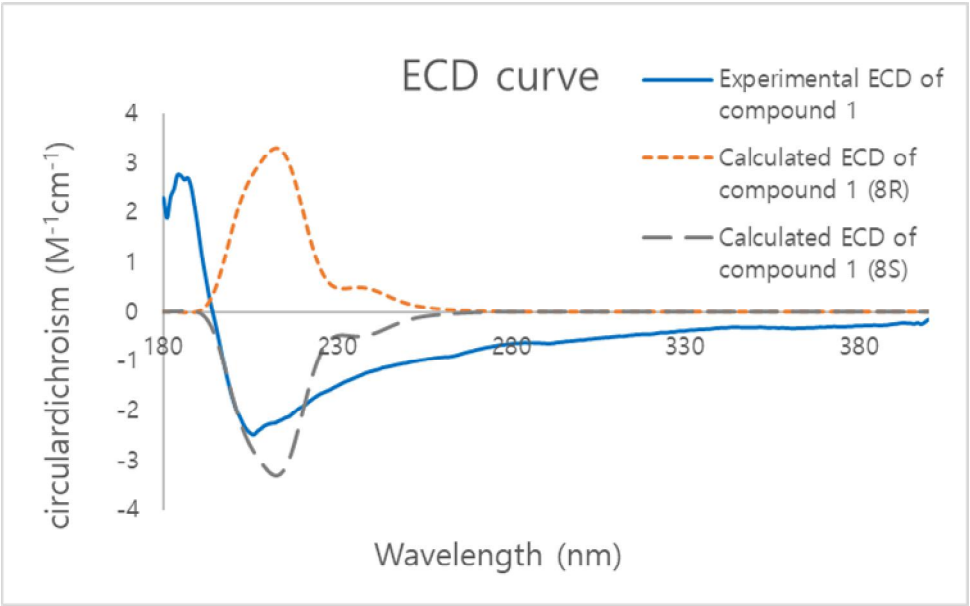


Figure 8. Calculated and experimental ECD spectra of compound **1**

3.1.2. 화합물 2

화합물 2는 하얀색 침상형 화합물이며, HRESIM의 negative mode 측정 결과로 *m/z* 365.2108 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{29}O_3$, 365.2117) 값을 가지고 분자식은 $C_{24}H_{30}O_3$이다. IR 스펙트럼 값은 3383, 2973, 2929, 1604, 1514, 1448, 1371, 1230, 1057, 833 cm^{-1}이다. 3383 cm^{-1} 강한 흡수띠는 O-H stretching을, 1604, 1514 cm^{-1} 신축띠는 방향족 고리 부분을, 1448 cm^{-1} 과 1371 cm^{-1} 굽힘 흡수띠는 각각 methylene, methyl을 나타내는 것을 확인할 수 있다. 그리고 UV 스펙트럼의 λ_{max}는 (log ε) 202 (4.67), 230 (*sh*) (4.33), 280 (3.95) nm이다. Isoprenyl group (3-methylbut-2-en-1-yl)이 결합된 dihydropiceatannol 화학구조를 가지는 gancaonin R에서 hydroxy group이 수소로 치환된 dihydroresveratrol 골격인 화합물 2 (3'-dehyroxy gancaonin R)는 gancaonin R의 ^1H 와 ^{13}C NMR spectrum과 비교하였을 때, B ring을 제외한 구조들의 NMR 값이 유사한 것을 알 수 있었다 (Fukai et al., 1991).

^1H NMR spectrum에서 4개의 aromatic proton signals인 δ_H 6.99 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2', H-6'), 6.69 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3', H-5')는 B ring의 *para* disubstituted benzene로, δ_H 6.24 (1H, s, H-4)의 proton signal은 또 다른 방향족 A ring으로 할당하였다. 그리고 한 쌍의 prenyl moiety를 구성하는 δ_H 5.06 (2H, d, *J* = 6.4 Hz, H-8, H-13), 3.27 (4H, d, *J* = 6.3 Hz, H-7, H-12), 1.72 (6H, s, H-11, H-16), 1.65 (6H, s, H-10, H-15) proton signal과 methylene proton인 δ_H 2.71 (2H, m, H-α), 2.61 (2H, m, H-β)를 확인하였고, 화합물 2는 대칭구조임을 알 수 있었다. ^{13}C NMR spectroscopic data와 DEPT-135 spectrum를 통해 이 화합물의 탄소는 4개의 methyl group, 4개의 methylene group, 7개의 methine group과 9개의 quaternary carbons (3개의 oxygenated olefinic carbon 포함)으로, 총

24개의 탄소로 존재한다는 것을 확인하였다. COSY 스펙트럼에서 δ_H 2.71 (H-α)과 δ_H 2.61 (H-β)는 상관관계를 가지고, HMBC spectrum에서의 δ_H 2.61 (H-β) 수소 피크는 δ_C 134.8 (C-1')와 130.1 (C-2', C-6') 탄소 피크 사이에 상관관계를 보이며, δ_H 2.71 (H-α)는 δ_C 141.6 (C-1)와 119.3 (C-2, C-6)와의 상관관계를 통해 화합물 **2**는 dihydrostilbene 알 수 있었다. 또한 COSY 스펙트럼에서는 δ_H 5.06 (H-8, H-13)와 δ_H 3.27 (H-7, H-12) 수소 간의 또 다른 상관관계를 가지고, HMBC 스펙트럼에서 methyl proton δ_H 1.72 (H-11, H-16), 1.65 (H-10, H-15)는 δ_C 126.5 (C-8, C-13), 130.4 (C-9, C-14)와의 상관관계로 대칭구조인 화합물 **2**는 동일한 두 prenyl group을 가진다는 점을 설명할 수 있다. NOESY spectrum에 나타난 δ_H 5.06 (H-8, H-13)와 δ_H 1.65 (H-10, H-15)의 반점을 통해 prenyl group의 methyl group의 δ_H 1.72 (H-11, H-16), 1.65 (H-10, H-15)의 수소 위치를 할당하였다. 게다가 δ_H 3.27 (H-7, H-12)에서 δ_C 154.7 (C-3, C-5), 141.6 (C-1), 119.3 (C-2, C-6)로 HMBC 상관관계가 있어서 stilbenoid의 A ring에 연결된 두 개의 동일한 prenyl group의 위치를 확정하였다. 위의 결과들로 화합물 **2**의 구조는 5-(4-hydroxyphenethyl)-4,6-bis(3-methylbut-2-en-1-yl)benzene-1,3-diol로 최종 결정하였으며, 3'-dehyroxy gancaonin R 로 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 처음으로 보고분리되는 화합물이다.

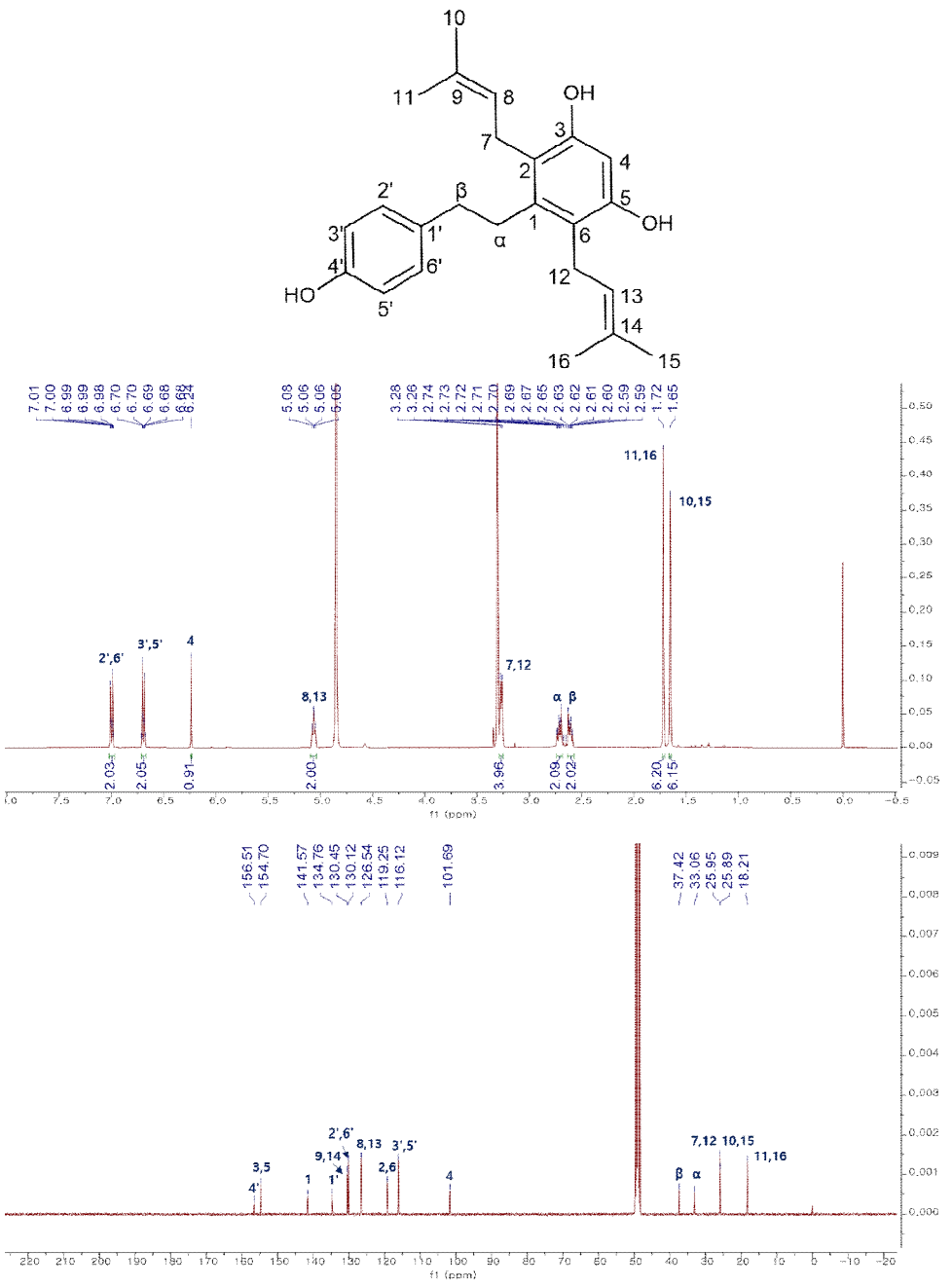


Figure 9. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **2** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

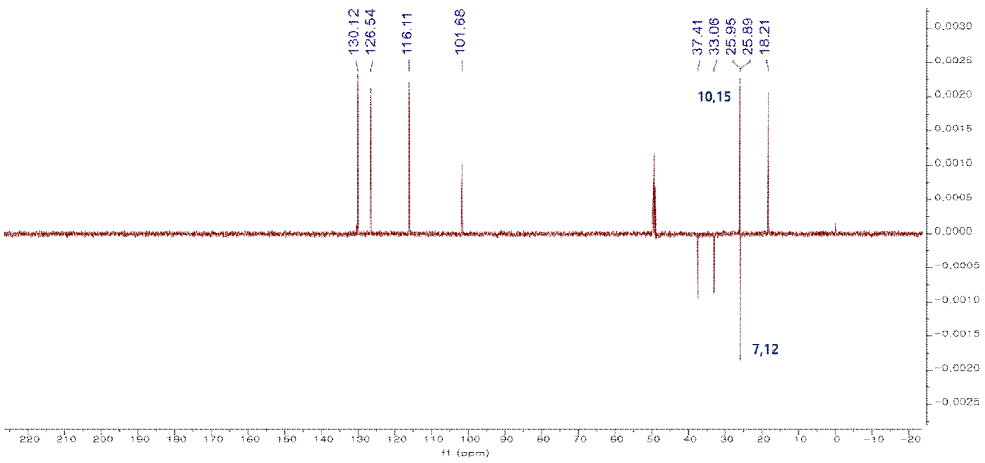


Figure 10. DEPT−135 spectrum of compound **2** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4)

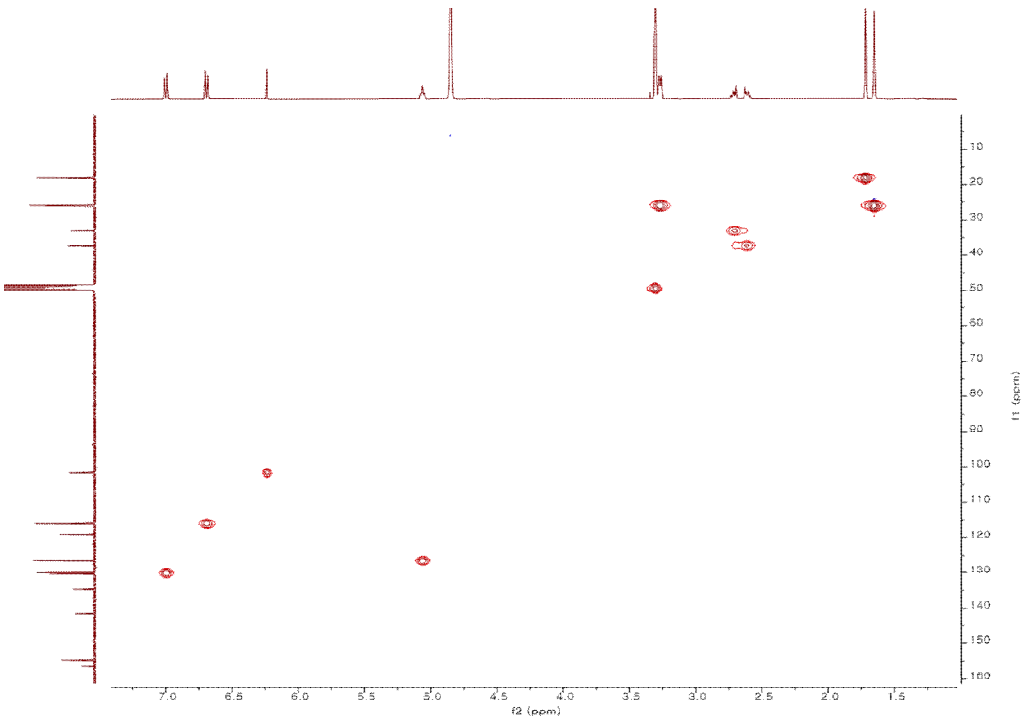


Figure 11. HSQC spectrum of compound **2** in MeOH−d_4

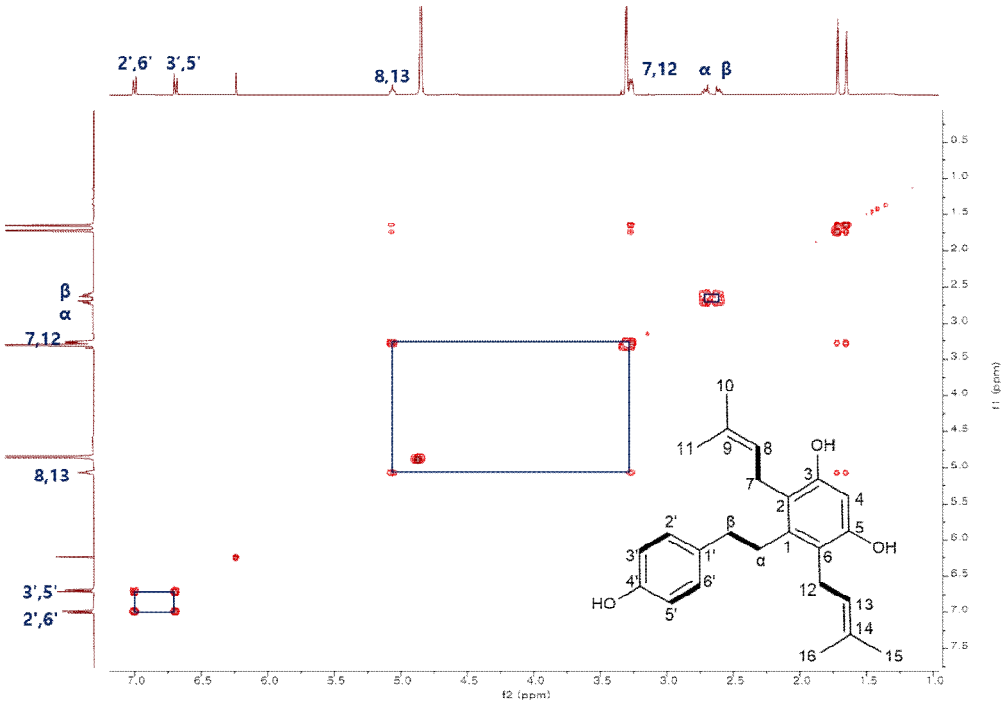


Figure 12. Key COSY correlations of compound **2** in MeOH−d_4

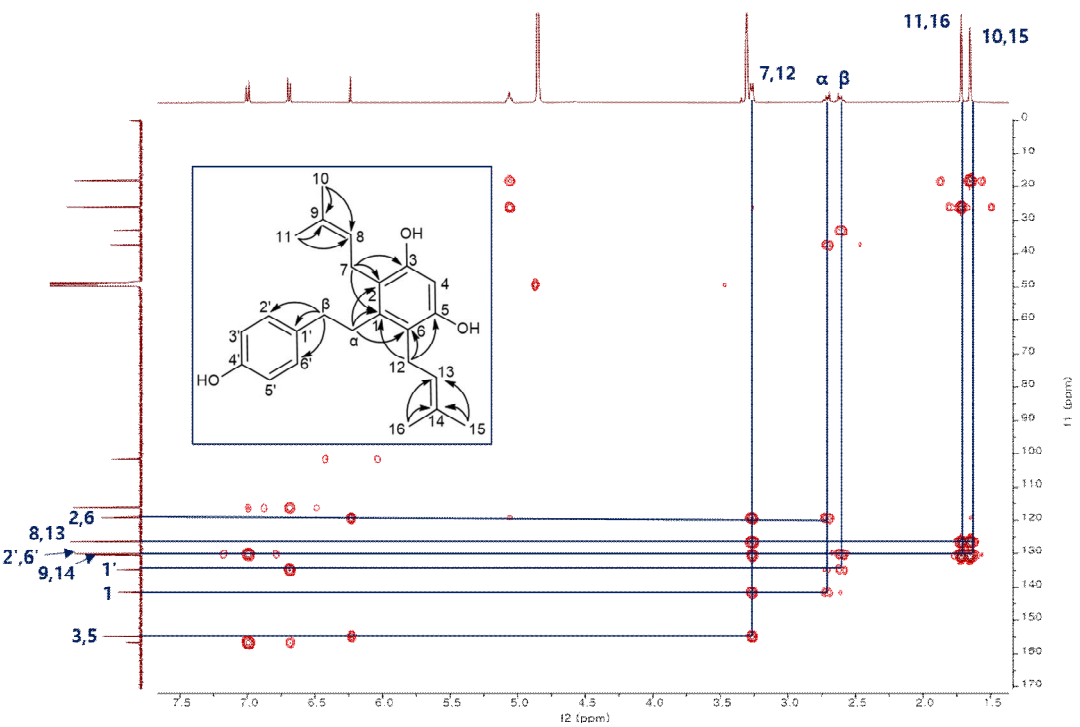


Figure 13. Key HMBC correlations of compound **2** in MeOH−d_4

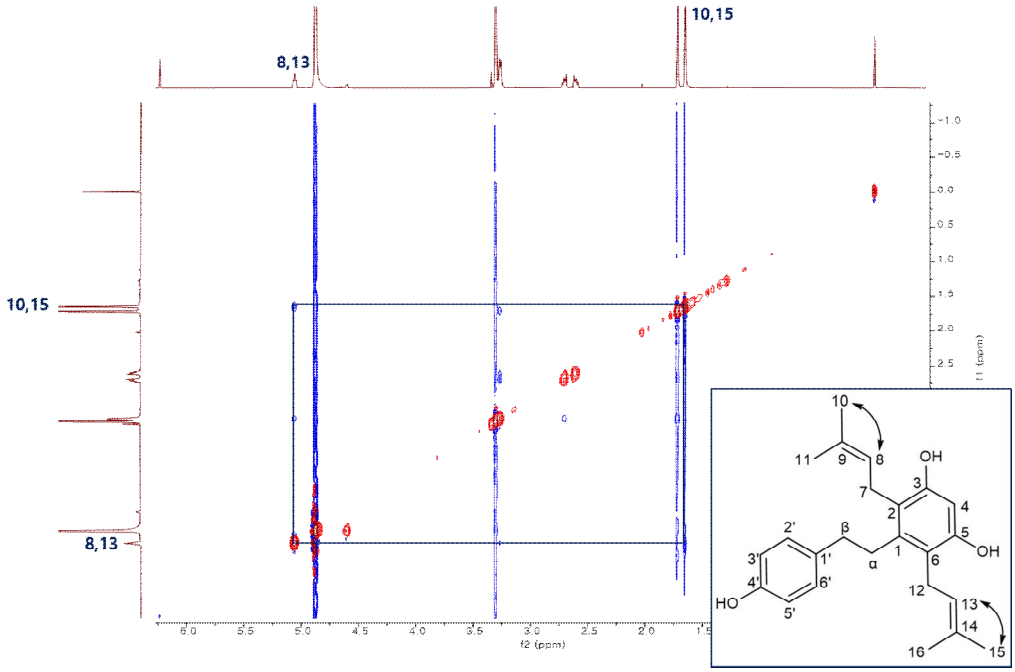


Figure 14. NOESY spectrum of compound **2** in MeOH−d_4

3.1.3. 화합물 3

화합물 3은 노란색 무정형 고체 성상을 가지며, HRESIMS의 positive mode 측정 결과로 HRESIMS *m/z* 397.2375 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{25}H_{33}O_4$, 397.2379) 값을 가지고 분자식이 $C_{25}H_{32}O_4$이다. IR 스펙트럼 값은 3268, 2980, 2891, 1609, 1514, 1406, 1286, 1091, 1028 cm^{-1}이다. 특징적인 흡수띠를 해석하여서 hydroxy, methine, benzene, methylene, methyl group의 작용기 존재를 확인할 수 있었다.

화합물 3은 gancaonin R 화학구조의 C-4' 위치에 methoxy group이 결합된 형태 (4'-methoxy-gancaonin R)로, ^1H 와 ^{13}C NMR spectrum과 비교하였을 때 gancaonin R 구조의 NMR 값과 유사한 패턴을 보인다 (Fukai et al., 1991). ^1H NMR spectrum에서 3개의 aromatic proton signals인 δ_H 6.82 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.63 (1H, dd, J = 8.2, 2.1 Hz, H-6')의 coupling constant를 참고하여서 B ring이 1,3,4-trisubstituted benzene임을 유추할 수 있었으며, δ_H 6.24 (1H, s, H-4)의 proton signal은 또 다른 방향족 A ring에 할당되어서 두 개의 방향족 고리의 치환 패턴을 확정 지을 수 있다. 또한 δ_H 5.06 (2H, t, J = 6.7 Hz, H-8, H-13), 3.27 (4H, d, J = 6.6 Hz, H-7, H-12)의 proton signal은 한 쌍의 allyl group이 있음을 나타내며, δ_H 1.70 (6H, s, H-11 and H-16), 1.66 (6H, s, H-10, H-15)의 존재로 한 쌍의 isoprenyl group이 있음을 예상할 수 있었다.

또한, δ_H 2.72 (2H, m, H-α)와 δ_H 2.58 (2H, m, H-β)인 2개의 methylene group proton이 있음을 확인했다. ^{13}C NMR spectroscopic data와 DEPT-135 spectrum를 통해 이 화합물의 탄소는 4개의 methyl group, 4개의 methylene group, 6개의 methine group과 11개의 quaternary carbons으로, 총 25개의 탄소로 존재한다는 것을 확인하였다. COSY spectrum에서 2개의 methylene proton δ_H 2.72

(2H, m, H-α)과 δ_H 2.58 (2H, m, H-β)는 상관관계를 가지며, HMBC spectrum에서 δ_H 2.72 (2H, m, H-α)는 δ_C 141.5 (C-1), δ_C 119.2 (C-2, C-6) 탄소 피크와 correlation 하며, δ_H 2.58 (2H, m, H-β)는 δ_C 136.9 (C-1'), δ_C 120.3 (C-6'), δ_C 116.3 (C-2')와 상관관계가 있어서 dihydrostilbene 기본 골격을 결정하였다. 또한 δ_H 5.06 (H-8, H-13)와 δ_H 3.27 (H-7, H-12)의 COSY correlation과, methyl group의 수소의 δ_H 1.70 (H-11, H-16), 1.66 (H-10, H-15)/δ_C 130.5 (C-9, C-14), 126.4 (C-8, C-13)의 HMBC 상관관계로 동일한 두 개의 prenyl group의 부분 구조를 확인하였다. δ_H 3.27 (H-7, H-12)와 δ_C 154.6 (C-3, C-5), 141.5 (C-1), 119.2 (C-2, C-6) 간 HMBC 상관관계로 A ring 위의 C-2와 C-6에 연결된 한 쌍의 prenyl group의 위치를 알 수 있었다. δ_H 3.82 (4-'OC$\underline{H_3}$)/δ_C 147.2 (C-4') HMBC correlation 및 δ_H 6.82 (H-5')/3.82 (4-'OC$\underline{H_3}$) NOESY correlation으로 δ_C 56.5 (4'-O$\underline{C}H_3$)의 위치도 확정하였다. 그리고 NOESY spectrum에서 δ_H 5.06 (H-8, H-13)/δ_H 1.66 (H-10, H-15)의 correlation을 확인하여서 prenyl group의 methyl group의 δ_H 1.72 (H-11, H-16), 1.65 (H-10, H-15)의 수소 위치를 할당하였다. 위의 결과들로 화합물 **3**의 구조는 5-(3-hydroxy-4-methoxyphenethyl)-4,6-bis(3-methylbut-2-en-1-yl)benzene-1,3-diol로 최종 결정하였으며, 이 화합물은 4'-methoxy-gancaonin R 로 명명하였으며, 이 구조는 천연물에서 처음으로 발견된 화합물이다.

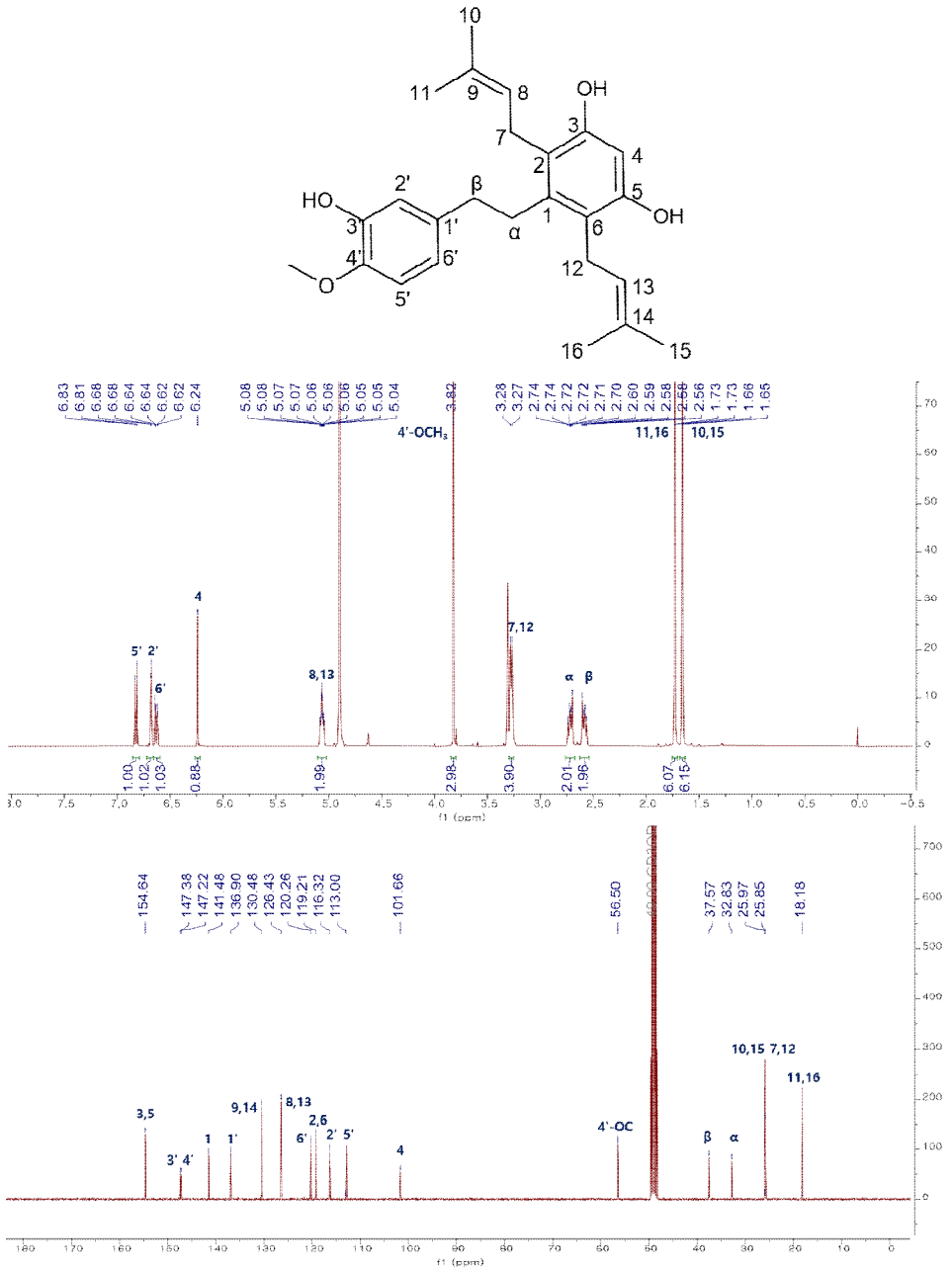


Figure 15. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **3** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

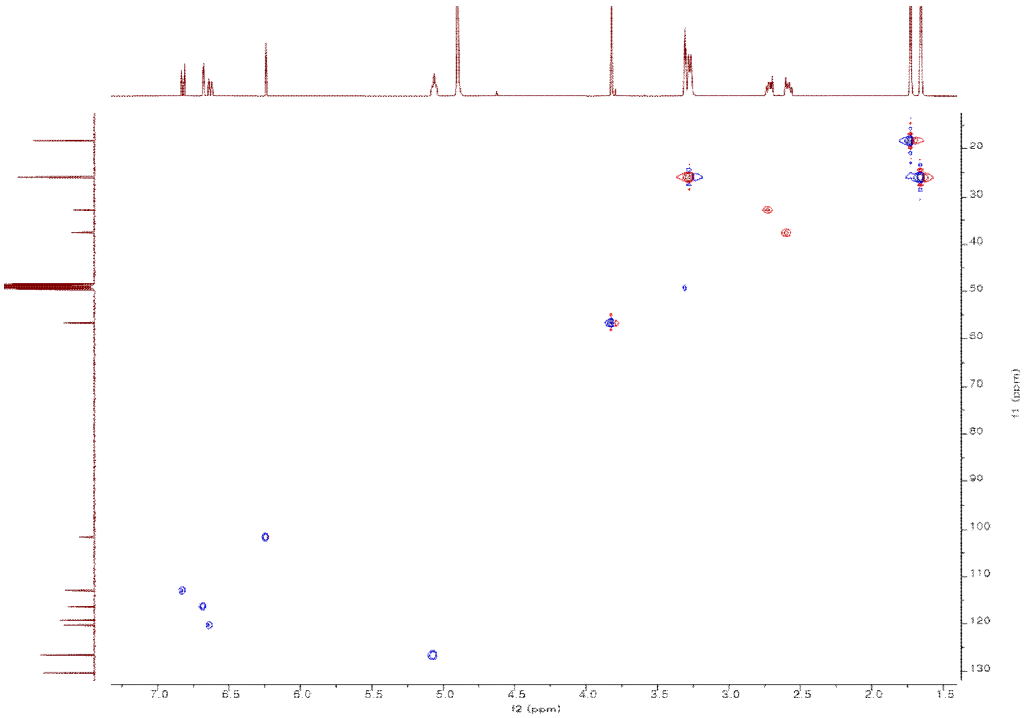


Figure 16. HSQC spectrum of compound **3** in MeOH−d_4

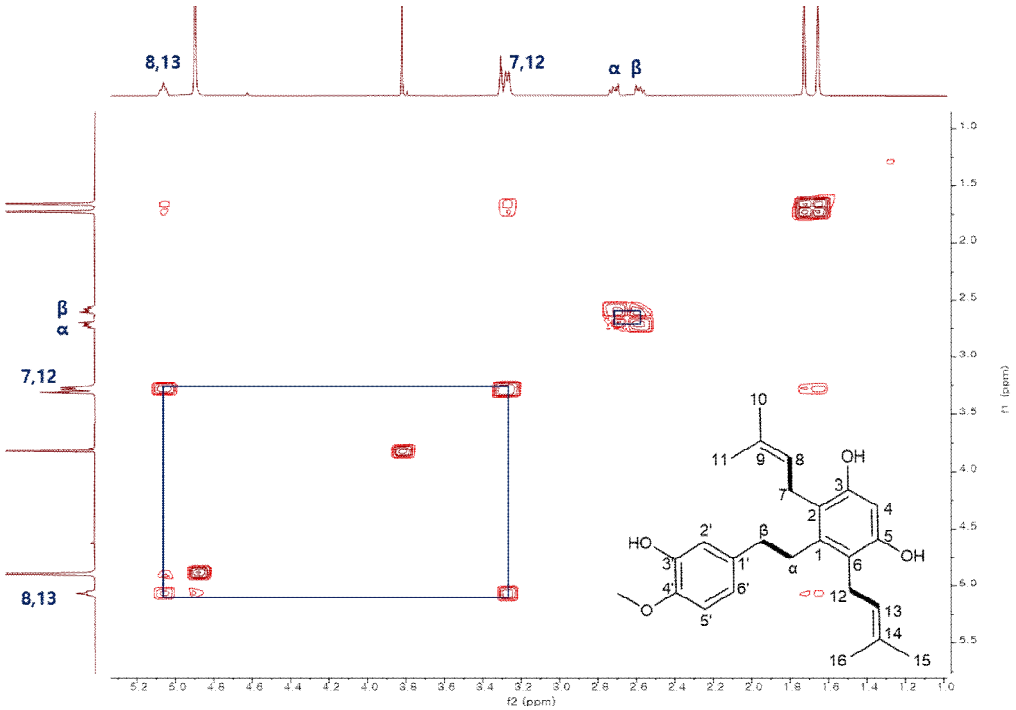


Figure 17. Key COSY correlations of compound **3** in MeOH−d_4

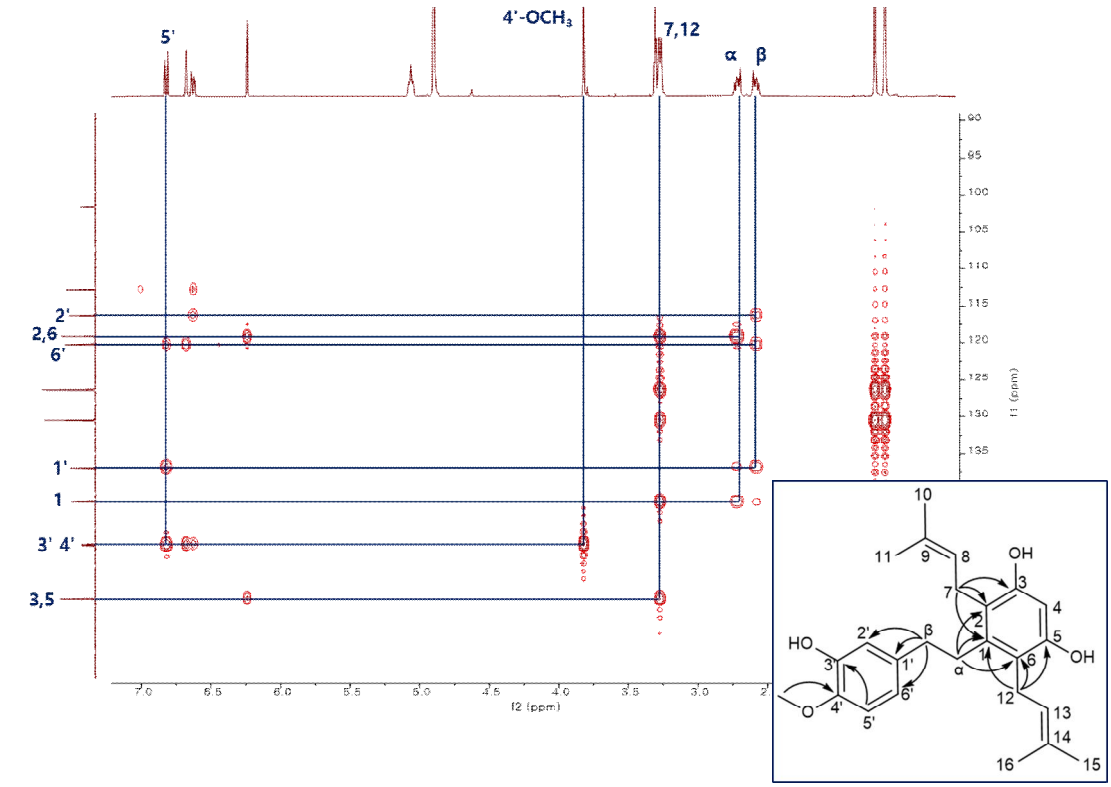


Figure 18. Key HMBC correlations of compound **3** in MeOH−d_4

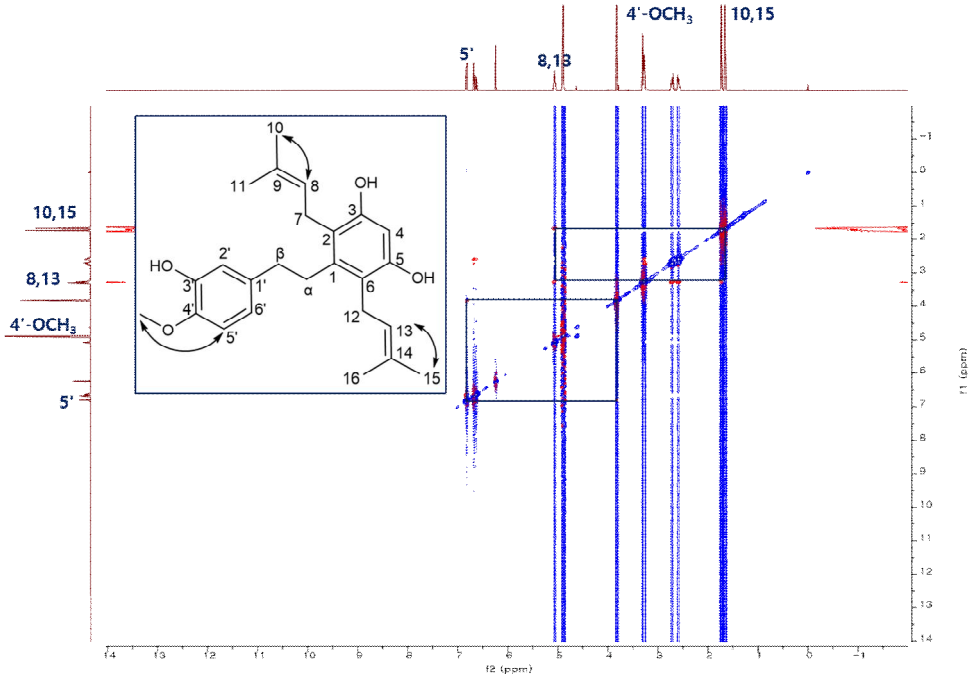


Figure 19. NOESY spectrum of compound **3** in MeOH−d_4

3.1.4. 화합물 **4**

화합물 **4**는 하얀색 무정형 분말 특징을 가지고, HRESIMS 측정으로 *m/z* 423.2177 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{31}O_5$, 423.2171), 분자식 $C_{26}H_{32}O_5$ 결과를 얻었다. IR 스펙트럼은 3411, 2974, 2927, 2866, 1738, 1602, 1518, 1442, 1370, 1207, 1059 cm^{-1}이다. 3411 cm^{-1} 영역에서 나타난 흡수띠는 O-H 신축띠를 나타내며, 1738 cm^{-1} 신축 흡수띠는 phenyl group과 conjugation을 이룬 C=O를, 1602, 1518 cm^{-1} 신축흡수띠는 방향족 고리 부분을, 1207 cm^{-1} 중간 세기 굽힘 흡수띠는 carbonyl 그룹에 결합된 aryl 그룹이 있음을 확인할 수 있다. UV 스펙트럼의 λ_{max}는 (log ε) 202 (4.67), 282 (4.05) nm이다. 화합물 **2**의 화학구조와 비교하였을 때, 화합물 **4**에는 C-3' 위치의 hydroxy group과, C-3번 위치의 acetyl group의 차이가 있다.

^{1}H NMR spectrum에서 δ_H 6.67 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.62 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.49 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6')의 proton signal의 coupling constant를 통해 B ring에서 1,3,4-trisubstitution pattern이라는 사실을 확인했다. δ_H 6.67 (H-5')/δ_C 146.2 (C-3'), δ_H 6.62 (H-2')/δ_C 144.7 (C-4'), δ_H 6.36 (H-4)/δ_C 155.1 (C-5), 149.0 (C-3) HMBC correlation으로 δ_C 155.1 (C-5), 149.0 (C-3), 146.2 (C-3'), 144.7 (C-4') carbon signal은 oxygenated olefinic carbon으로 각 탄소의 위치를 확인하여서 dihydropiceatannol 골격의 화학구조임을 알 수 있었다. HSQC spectrum으로 δ_C 20.9 (3-COO<u>C</u>H$_3$)와 δ_H 2.22 (3-COOC<u>H$_3$</u>)의 연결을 확인했으며, δ_H 2.22 (3-COOC<u>H$_3$</u>)/δ_C 171.8 (3-<u>C</u>OO) HMBC correlation을 통해 acetyl group 부분 구조를 확정 지을 수 있었다. NOESY spectrum 위의 δ_H 3.16 (H-7)/δ_H 2.22 (3-COOC<u>H$_3$</u>) 상관관계로 acetic acid ester group가 C-3위치에 있음을 증명하였다. 위의 결과들로 화합물 **4**의 구조는 3-(3,4-

dihydroxyphenethyl)−5−hydroxy−2,4−bis(3−methylbut−2−en−1−yl)phenyl acetate로 결정했으며, 이 구조는 천연에서 처음으로 보고분리되는 화합물로 jacovulgarin B라고 명명하였다.

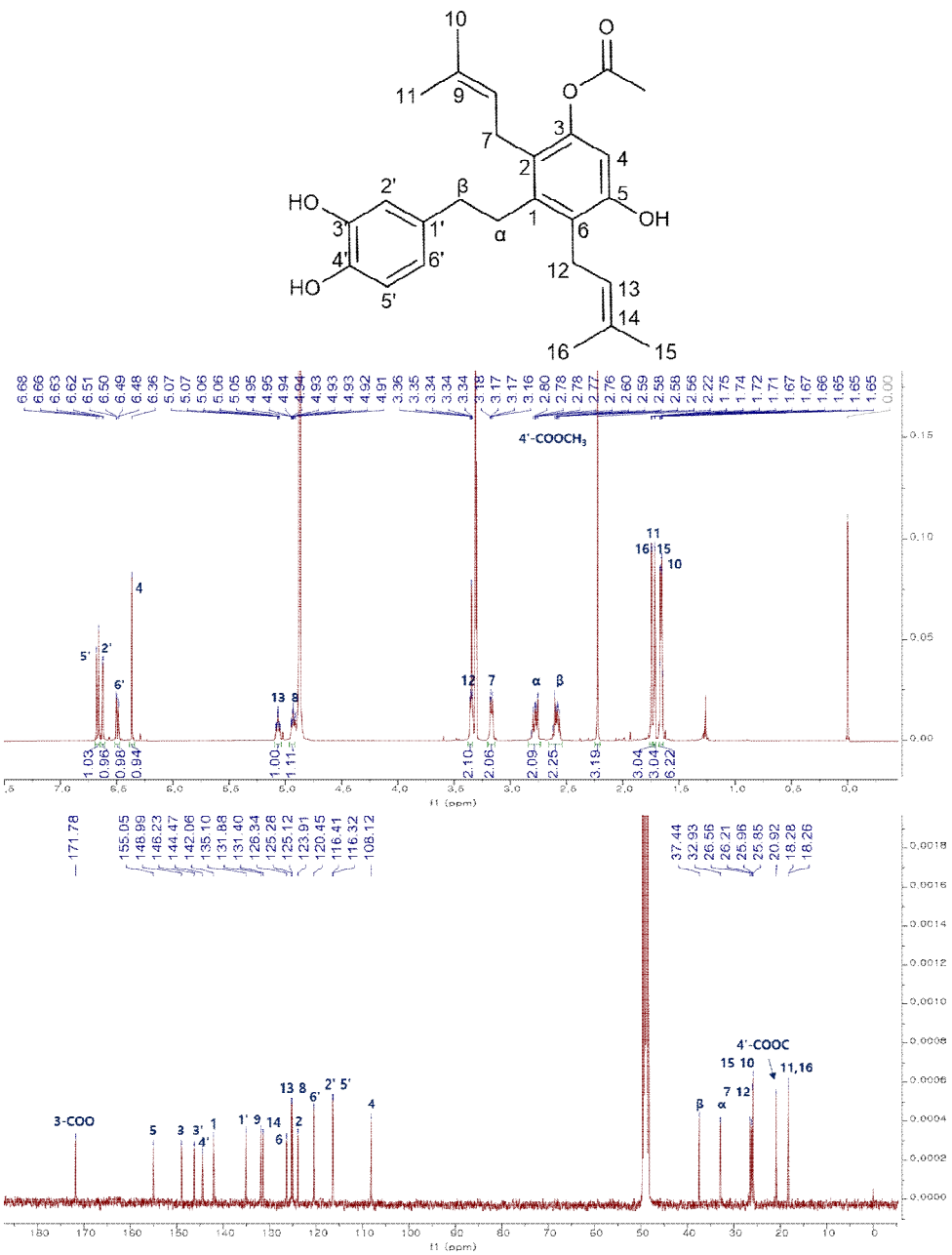


Figure 20. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **4** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

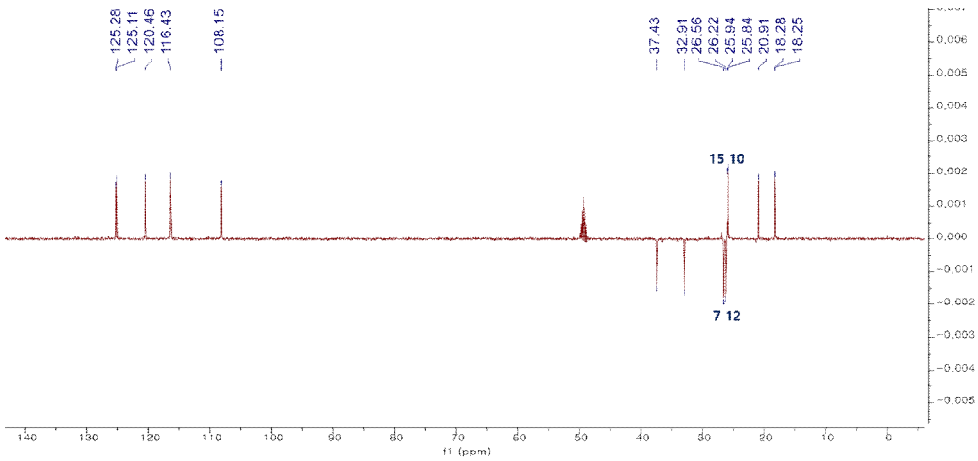


Figure 21. DEPT−135 spectrum of compound **4** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4)

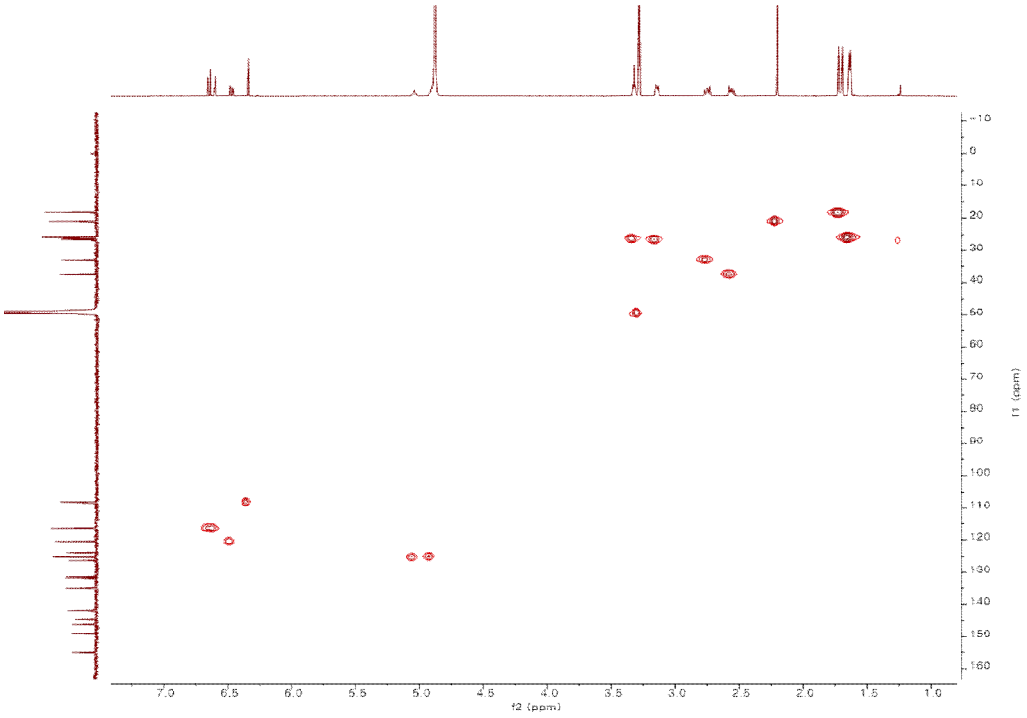


Figure 22. HSQC spectrum of compound **4** in MeOH−d_4

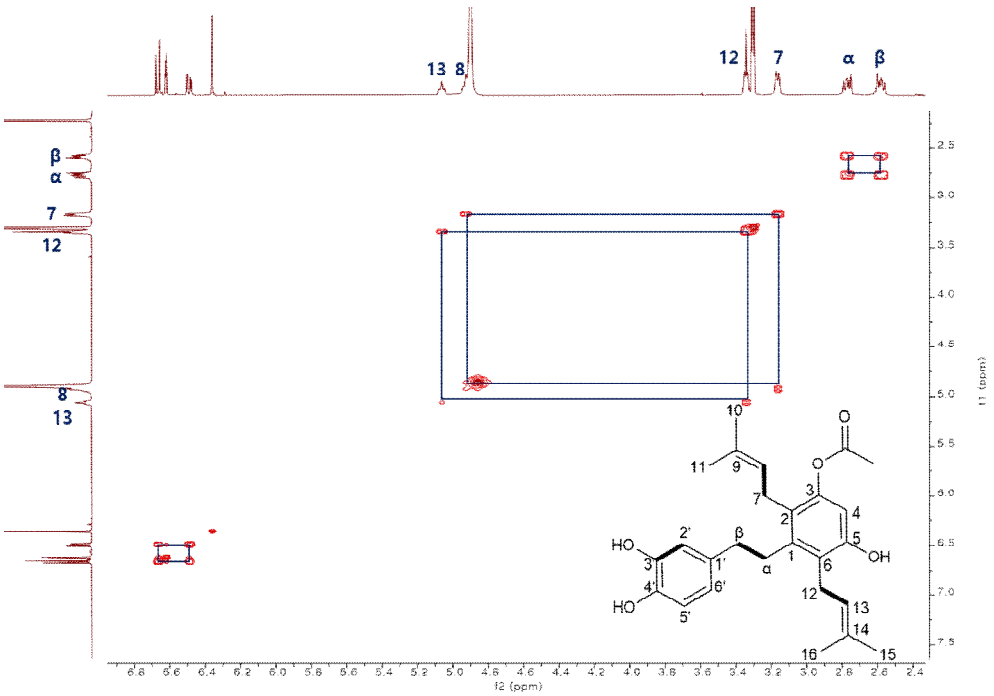


Figure 23. Key COSY correlations of compound **4** in MeOH−d_4

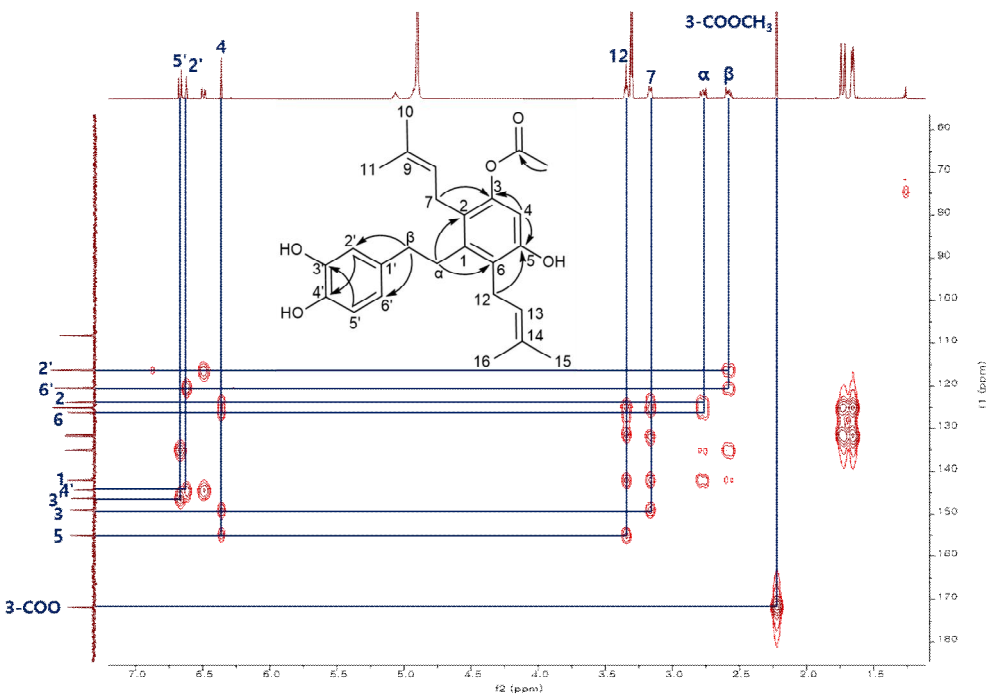


Figure 24. Key HMBC correlations of compound **4** in MeOH−d_4

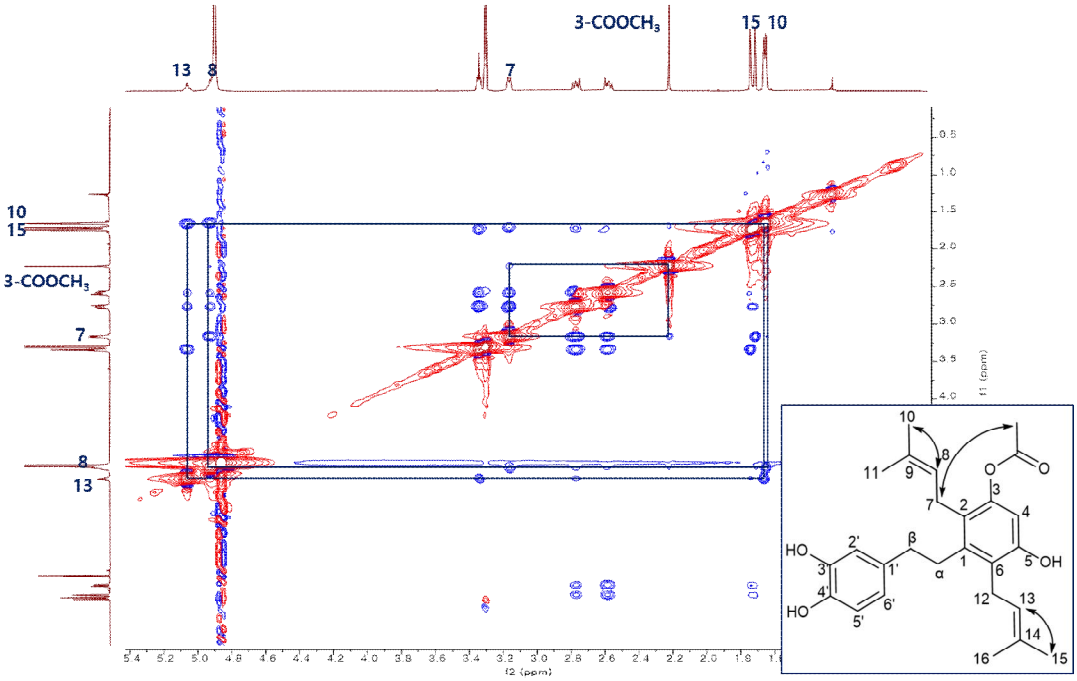


Figure 25. NOESY spectrum of compound **4** in MeOH−d_4

3.1.5. 화합물 5

화합물 5는 흰색 무정형 분말이며, HRESIMS 측정으로 positive mode에서 *m/z* 315.1591 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{19}H_{23}O_4$, 315.1599) 결과를 얻었고 분자식은 $C_{19}H_{22}O_4$이다. IR spectrum은 3384, 2971, 2941, 2893, 1599, 1463, 1383, 1272, 1120 cm^{-1} 이며, hydroxy, benzene, methylene, methyl group의 작용기를 확인하였다. UV 스펙트럼의 λ_{max} (log ε)는 203 (4.14), 264 (3.96) nm이다.

^{1}H NMR spectrum에서 proton signal의 coupling constant 값을 통해 각 수소의 위치 및 부분 구조를 완성할 수 있었다. 1,3,4-trisubstituted aromatic ring에 위치한 3개의 수소 δ_H 6.64 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.56 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.46 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, H-6')와 또 다른 벤젠 고리 *meta* 위치에 있는 δ_H 6.20 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-6), 6.02 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-4) 수소가 있으며, δ_H 2.48 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-7)과 δ_H 1.72 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-8)를 통해 두 개의 methylene이 연결되어 있는 alkyl group의 존재를 알 수 있었다. 또한 δ_H 2.70 (2H, m, H-α), 2.65 (2H, m, H-β) methylene group signal을 통해 해당 화합물이 stilbenoid 계열 화합물임을 예상할 수 있었다. HMBC spectrum (optimized at long range J = 2 Hz)에서 나타난 δ_H 6.64 (H-5')/δ_C 146.0(C-3'), δ_H 6.56 (H-2')/δ_C 144.4 (C-4'), δ_H 6.20 (H-6)/δ_C 157.1 (C-5), 상관관계로 δ_C 157.1 (C-5), 146.1 (C-3'), 144.4 (C-4') oxygenated olefinic carbon의 위치를 확인하였다. δ_H 1.72 (H-9)/δ_C 74.5 (C-9), 27.0 (C-10, C-11)간의 HMBC 상관관계로 5 carbon unit인 alkoxy group (C-7, C-8, C-9, C-10, C-11)을 유추할 수 있었고, δ_H 2.48 (H-7)/δ_C 156.0 (C-3), 143.1 (C-1), 112.0 (C-2) HMBC 상관관계로 부분 구조의 위치를 확정할 수 있었다. 이 부분구조의 형태 (사슬 또는 고리)를 파악하기 위해 HRESIMS를 통해

얻은 결과와 2-(3-Hydroxy-3-methylbutyl)phenol (Jetson et al., 2013), 2,2-Dimethylchromane (Yus et al., 2002) 화학구조의 ^{1}H 및 ^{13}C NMR spectroscopic data를 비교를 통해서 화합물 **5**에는 6 membered cyclic ether 구조가 aromatic ring에 결합된 구조라고 결정할 수 있었다. 위의 결과를 토대로 화합물 **5**는 4-(2-(7-hydroxy-2,2-dimethylchroman-5-yl)ethyl)benzene-1,2-diol로 최종 결정하였으며, jacovulgarin C라고 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 처음으로 분리 보고되는 화합물이다.

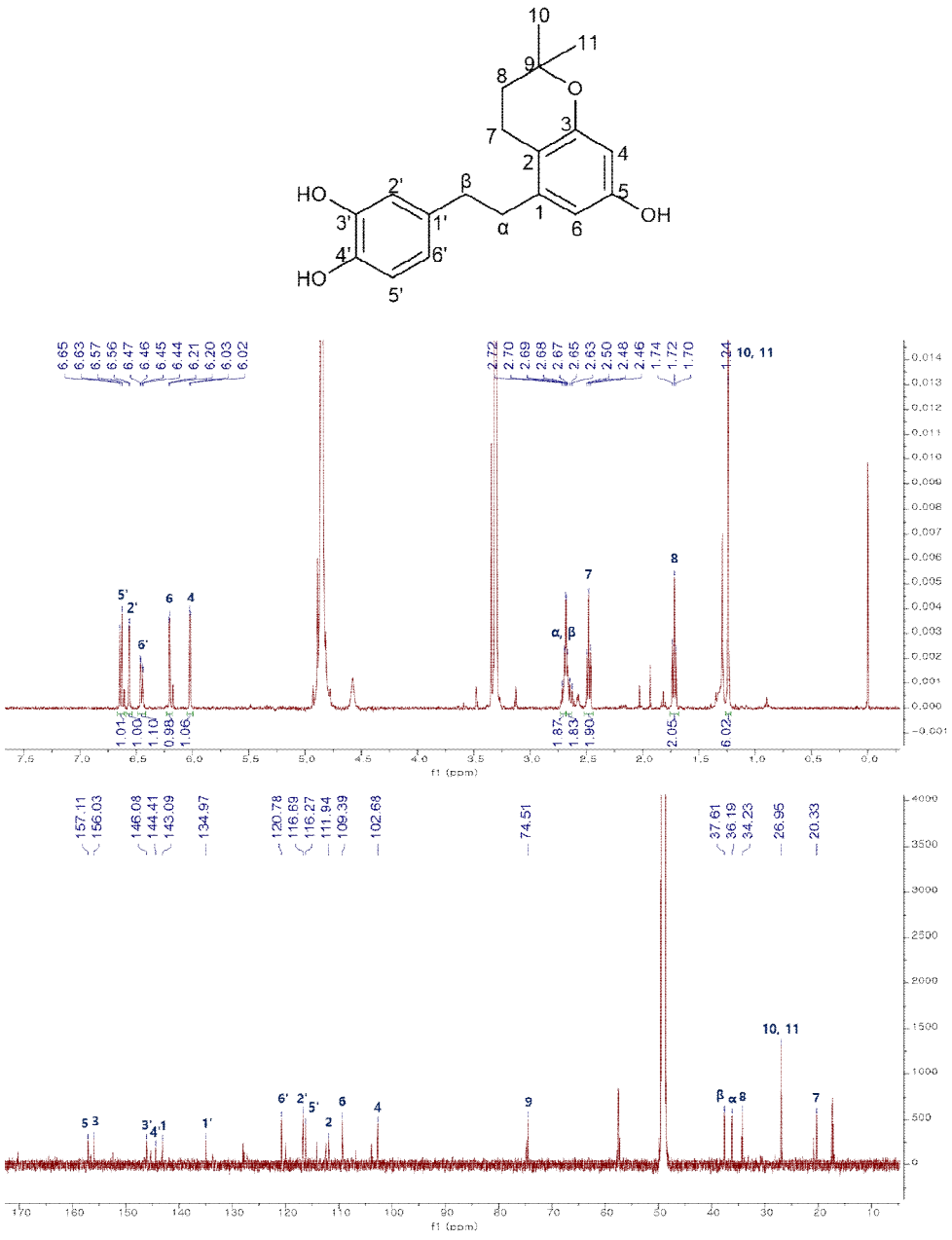


Figure 26. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **5** (recorded at 400/200 MHz, MeOH−d_4)

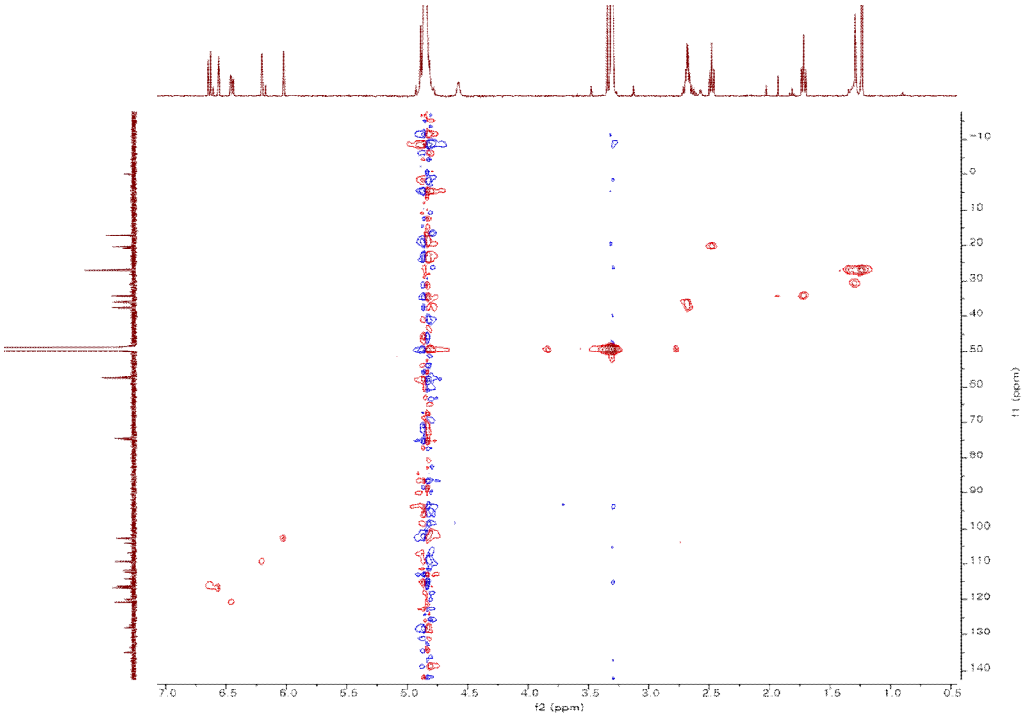


Figure 27. HSQC spectrum of compound **5** in MeOH−d_4

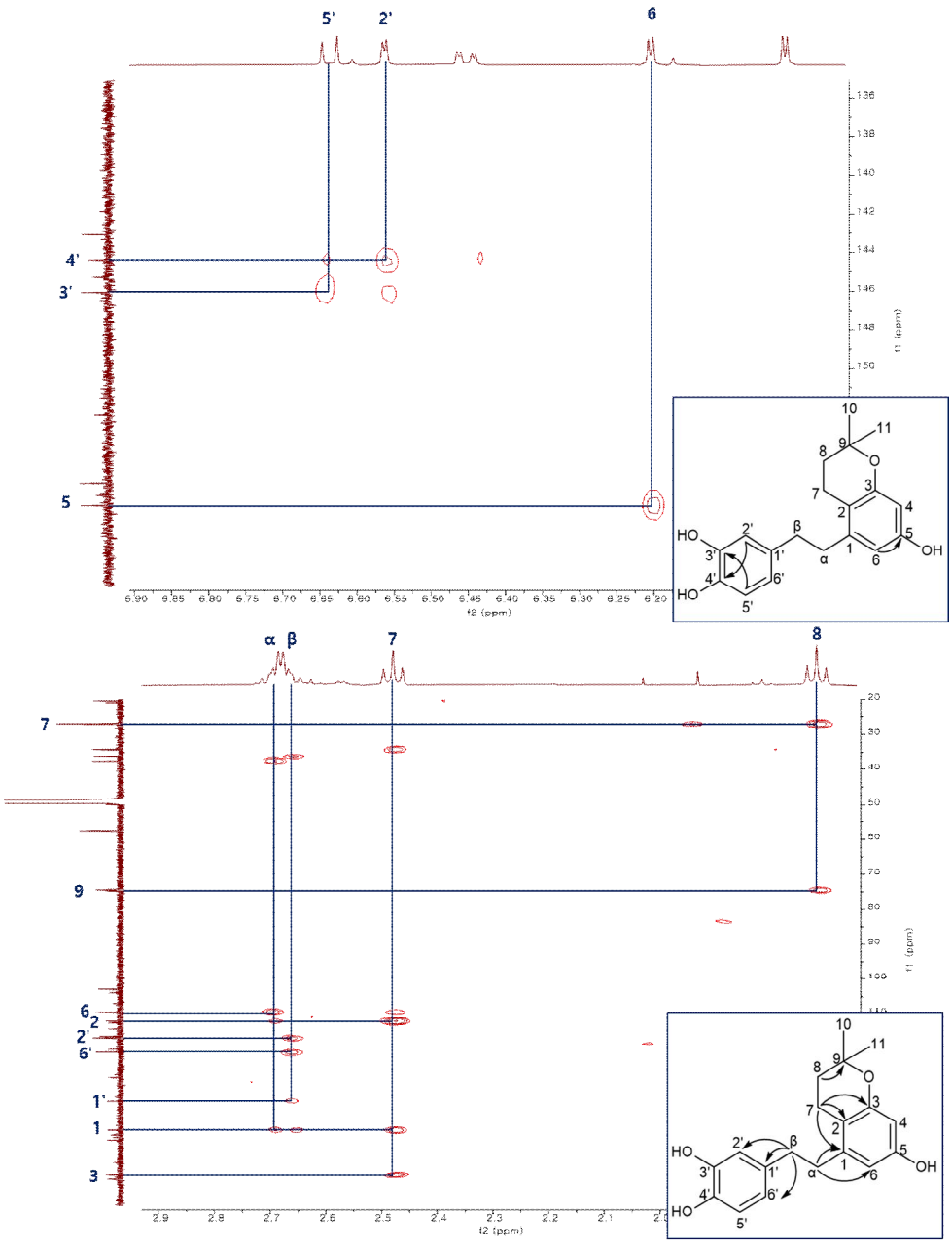


Figure 28. Key HMBC correlations of compound **5** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz)

3.1.6. 화합물 6

화합물 **6**은 노란 무정형 분말이며, HRESIMS 측정으로 negative mode에서 *m/z* 343.1552 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_5$, 343.1545) 결과를 얻었고 분자식은 $C_{20}H_{24}O_5$이다. IR spectrum에 나타난 3386, 2941, 2911, 2812, 2779, 1656, 1607, 1513, 1452, 1348, 1278, 1137, 1025, 1002, 766 cm^{-1} 특징적인 흡수띠를 토대로 hydroxy, methine, benzene, methylene, methyl group 등 작용기의 존재를 유추할 수 있었다. 화합물 **6**은 UV λ_{max} 202, 232 (*sh*), 280 nm 값을 가진다.

^{1}H NMR spectrum에서 방향족 고리 수소의 coupling constant 값을 통해 수소의 위치를 할당할 수 있어서, 1,3,4-trisubstituted aromatic ring에 위치한 3개의 수소 δ_H 6.80 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.57 (1H, dd, J = 8.1, 2.1 Hz, H-6')와 또 다른 벤젠 고리 위에 *meta* 위치에 있는 δ_H 6.19 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-5), 5.98 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-4) 수소가 있다는 사실을 확인하였다. 그 외 ^{1}H NMR spectrum에서 δ_H 3.72 (3H, s, H-4'OCH_3) methoxy proton을 확인했으며, ^{13}C NMR spectrum과 HSQC spectrum을 통해 이 수소는 δ_C 55.7 (C-4'OCH_3)에 결합되어있는 것을 확인하였고, B ring 위에 있는 δ_C 145.9 (C-4')과의 HMBC 상관관계으로 methoxy 위치를 확정할 수 있었다. DEPT-135 data와 HSQC spectrum에서 ^{1}H NMR spectrum에 나타난 integral이 4인 2.60 ppm proton은 각각 integral이 2인 δ_H 2.60 (4H, m, H-α, H-β) methylene 두 개가 겹쳐져 있는 것으로 확인하였다. δ_H 2.60 (H-α, H-β)와 δ_C 118.6 (C-6'), 115.7 (C-2'), 109.3 (C-2), 108.3 (C-6)의 HMBC 상관관계를 확인하여 dihydrostilbene 골격임을 증명했다. HMBC spectrum에서 δ_H 1.24 (H-11)와 δ_H 1.07 (H-10)은 δ_C 68.8 (C-8)와 상관관계를 가지며, COSY correlation으로

δ_H 3.56 (H-8)와 δ_H 2.71 (H-7), δ_H 2.33 (H-7)가 연결되어 있음을 확인하였다. δ_H 2.71 (H-7), 2.33 (H-7)과 A ring의 δ_C 109.3 (C-2), 153.4 (C-3)간의 HMBC 상관관계로 5 carbon units이 A ring에 연결된 위치를 알 수 있었다. 또한 δ_H 1.24 (H-10, H-11)/δ_C 153.4 (C-3)의 HMBC (optimized at long range J = 2 Hz) 상관관계로 2,2-dimethyl-3-hydroxy-3,4-dihydro-2H-pyran 구조가 tetra-substituted aromatic ring에 결합된 구조로 결정할 수 있었다. 그리고 C-8의 위치는 ECD spectrum의 측정으로 197 nm에서 positive Cotton effect와 223 nm에서 negative Cotton effect를 확인하였으며, calculated ECD spectrum (8*R*, 8*S*)과 비교하여 절대구조 8*S*로 규명할 수 있었다. 위의 결과들로 화합물 **6**을 (*S*)-5-(3-hydroxy-4-methoxyphenethyl)-2,2-dimethylchromane-3,7-diol로 최종 결정하였으며, jacovulgarin D라고 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 처음으로 분리 보고되는 화합물이다.

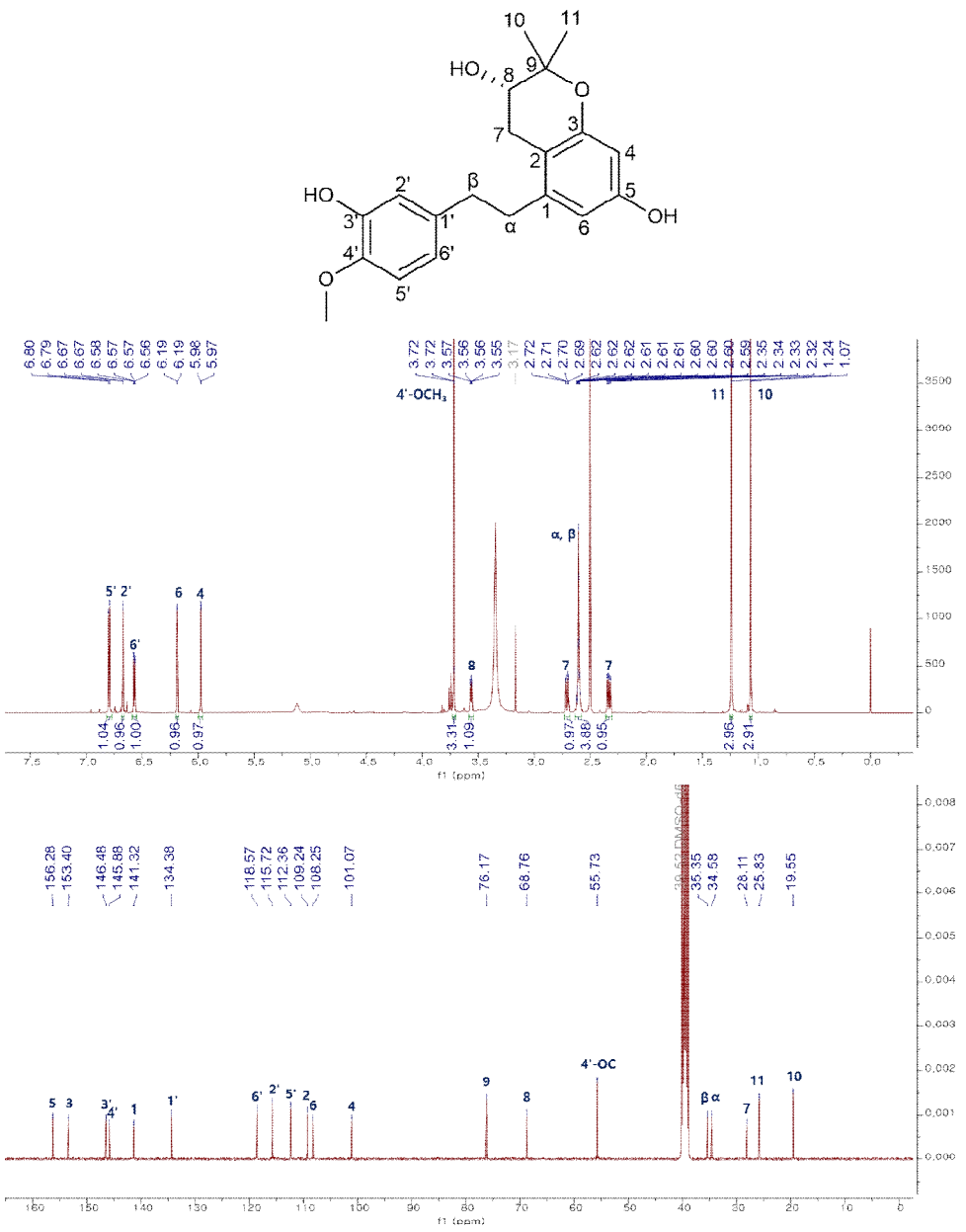


Figure 29. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **6** (recorded at 800/100 MHz, DMSO−d_6)

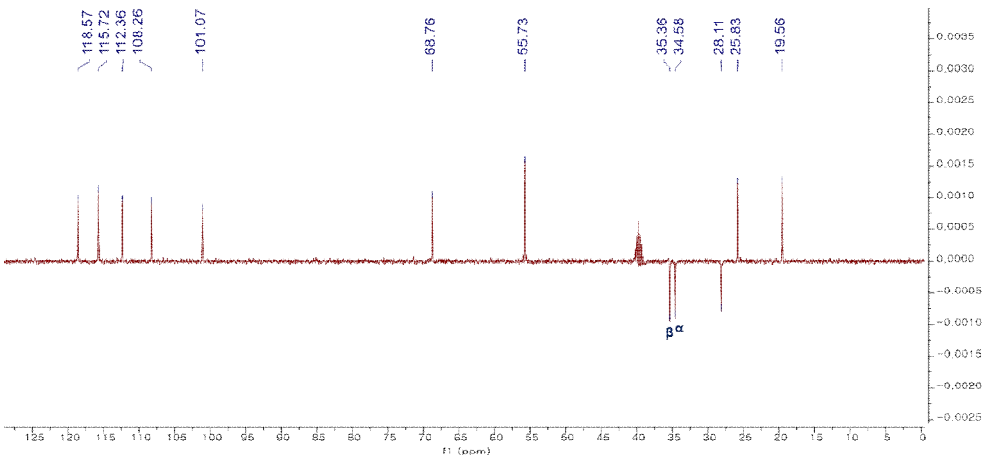


Figure 30. DEPT−135 spectrum of compound **6** (recorded at 100 MHz, DMSO−d_6)

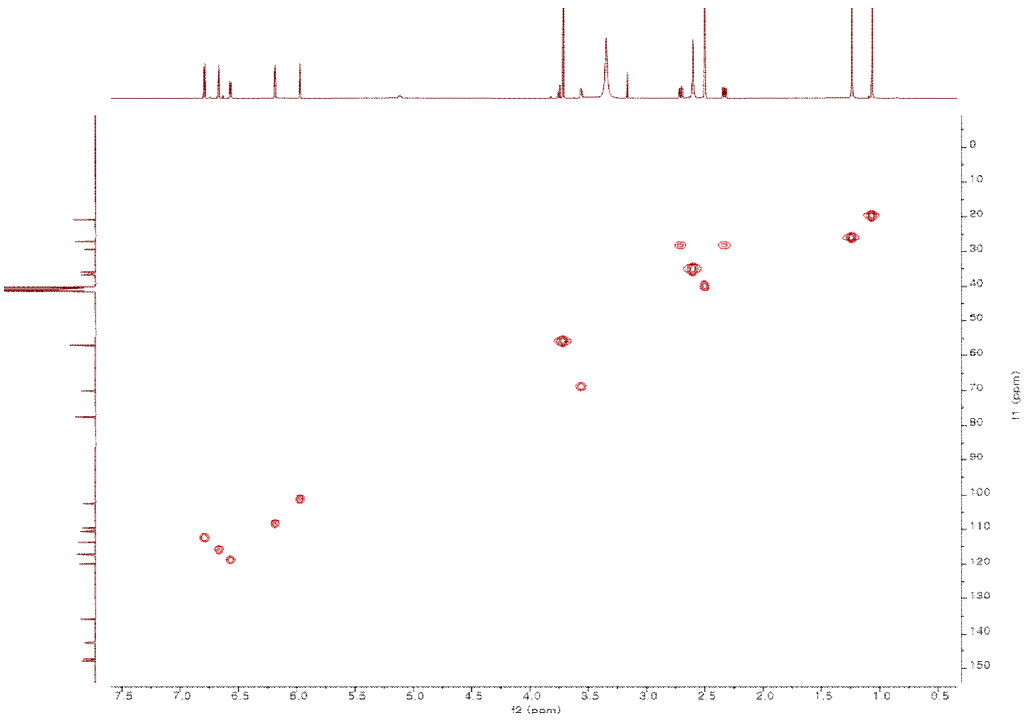


Figure 31. HSQC spectrum of compound **6** in DMSO−d_6

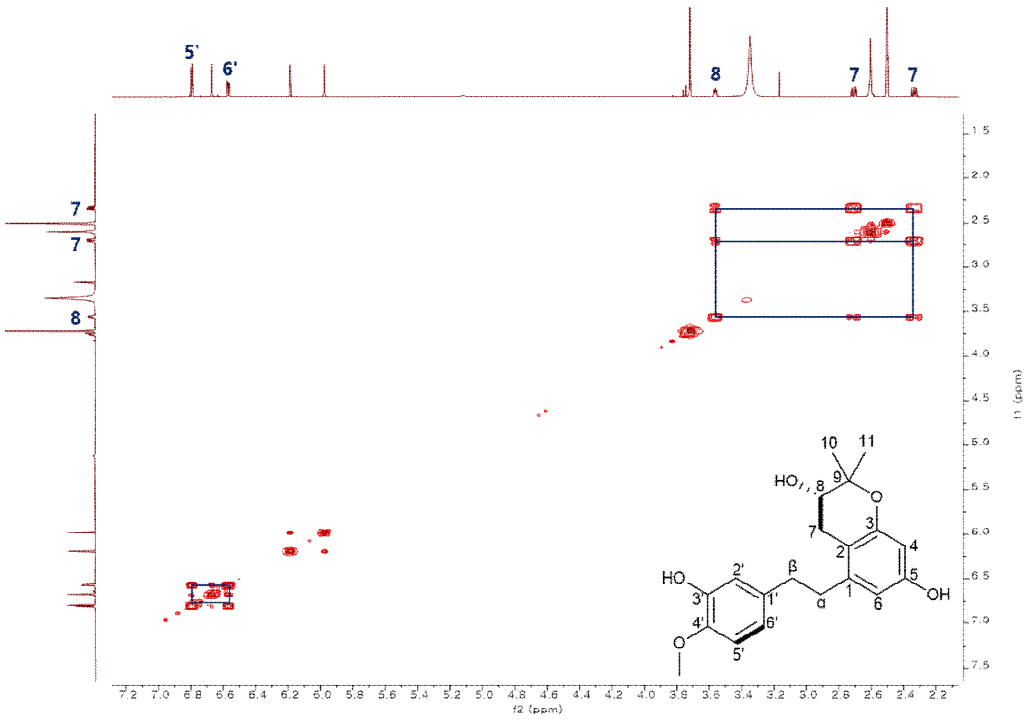


Figure 32. Key COSY correlations of compound **6** in DMSO−d_6

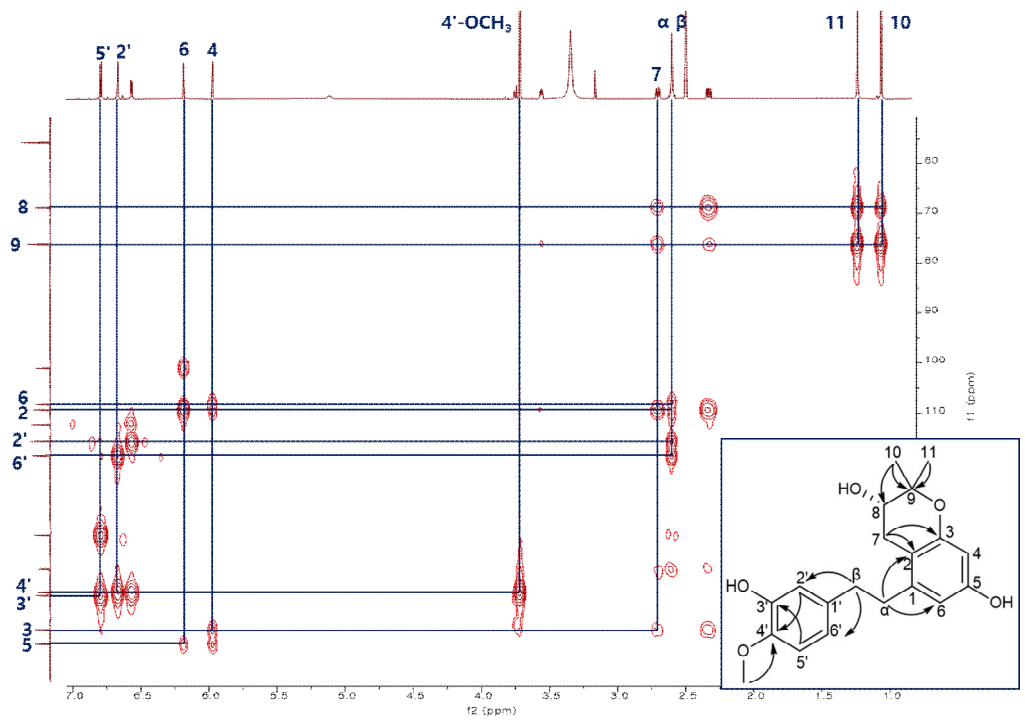


Figure 33. Key HMBC correlations of compound **6** in DMSO−d_6

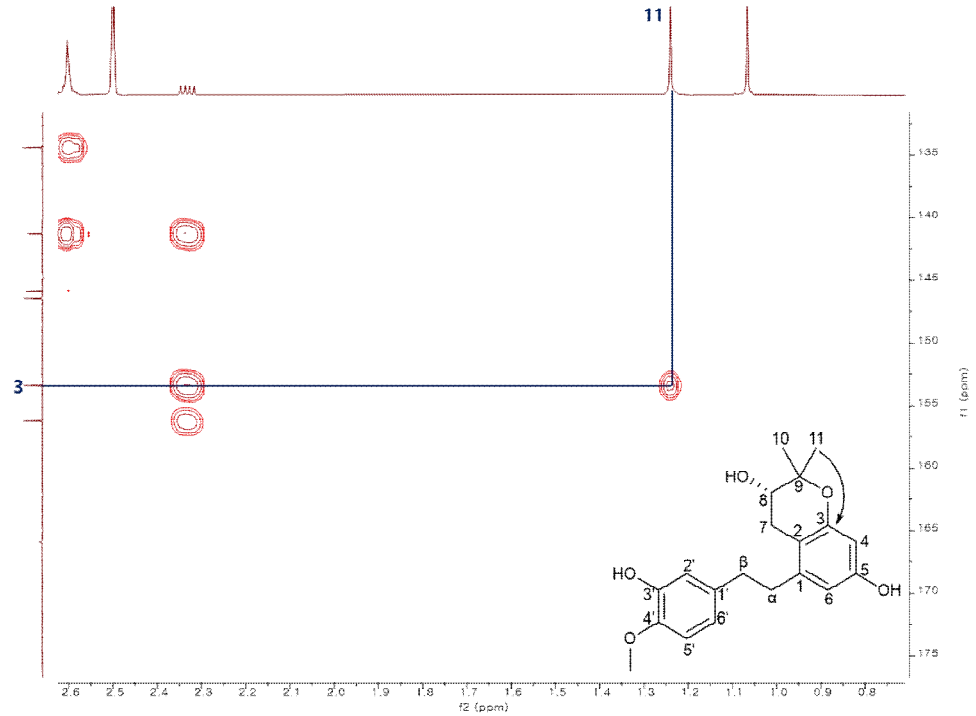


Figure 34. Key HMBC correlations of compound **6** in DMSO−d_6 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz)

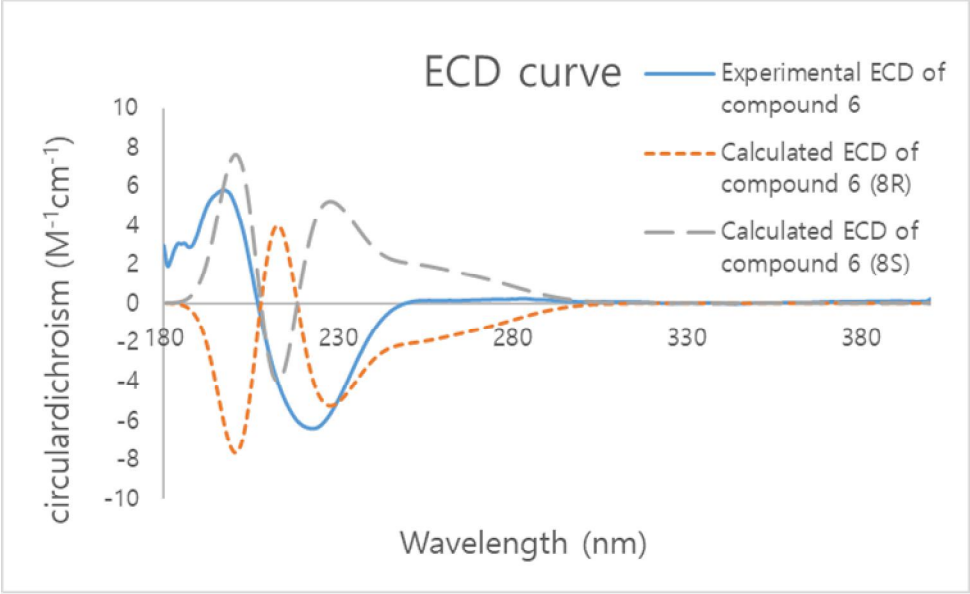


Figure 35. Calculated and experimental ECD spectra of compound **6**

3.1.7. 화합물 7

화합물 **7**은 갈색 무정형 고체 형태로, HRESIMS 측정 결과 $C_{24}H_{30}O_4$ 분자식을 갖고, *m/z* 381.2075 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{29}O_4$, 381.2066)의 값을 나타내는 물질임을 확인하였다. UV spectrum 극댓값은 203, 284 nm이다. IR spectrum에 나타난 3387, 2976, 2870, 2837, 1604, 1516, 1458, 1359, 1232, 1093, 1056, 1011, 889 cm^{-1} 영역의 흡수띠로 hydroxy, benzene, methylene, methyl group 등 화합물 **7**의 작용기 존재를 알 수 있었다. 화합물 **7**은 pyrano ring과 prenyl group이 결합된 dihydropiceatannol인 gancaonin T 화학구조에서 C-3'위치의 탄소에 결합된 OH group이 아닌 수소로 치환되어있는 dihydro-resveratrol derivatives 골격인 3'-dehydroxy gancaonin T이다. (Fukai et al., 1991).

Gancaonin T의 ^1H 와 ^{13}C NMR spectrum과 화합물 **7**을 비교하였을 때, B ring을 제외한 구조들의 NMR 값이 유사한 것을 알 수 있었다. ^1H NMR spectrum에서 4개의 aromatic proton signals인 δ_H 6.99 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-2', H-6'), 6.68 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-3', H-5')은 B ring의 *para* disubstituted benzene에 위치하며, 또 다른 벤젠 고리에는 δ_H 6.14 (1H, s, H-4) 수소가 있음을 확인했다. δ_H 5.07 (1H, t, J = 6.4, H-8), 3.28 (overlapped, H-7), 1.74 (3H, s, H-11), 1.66 (3H, s, H-10)은 prenyl moiety이며, δ_H 3.69 (1H, dd, J = 7.8, 5.6 Hz, H-13), 2.84 (1H, dd, J = 16.0, 5.6 Hz, H-12), 2.52 (1H, dd, J = 16.0, 7.8, H-12), 1.28 (3H, s, H-16), 1.16 (3H, s, H-15)은 2,2-dimethyl-3-hydroxy-3,4-dihydro-2H-pyran 부분 구조를 이룬다. ^{13}C NMR spectroscopic data와 DEPT-135 spectrum를 통해 화합물 **7**에는 methyl group 4개, methylene group 5개, methine group 7개와 quaternary carbon 8개로, 총 24개의

탄소가 존재한다는 것을 확인하였다. HMBC spectrum에서 나타난 δ_H 2.74 (H-α)/δ_C 141.1 (C-1), 120.7 (C-2), 111.0 (C-6)와 δ_H 2.64 (H-β)/δ_C 134.4 (C-1'), 130.3 (C-2', C-6') 상관관계를 확인하여서 두 개의 methylene이 benzene ring에 연결된 dihydrostilbene 구조임을 증명했다. HMBC spectrum에서 δ_H 1.28 (H-16), 1.16 (H-15)는 δ_C 77.0 (C-14), 71.4 (C-13)와 상관관계를 가지며 COSY correlation으로 δ_H 3.69 (H-13)와 δ_H 2.84 (H-12), 2.52 (H-12)가 연결되어 있음을 확인하였다. HMBC spectrum를 통해서 δ_H 2.84 (H-12), 2.52 (H-12)와 A ring의 δ_C 152.8 (C-5), 111.0 (C-6) 상관관관계로 dihydropyran group이 A ring의 C-5와 C-6 위치에 연결되었음을 확인하였으며, δ_H 3.28 (H-7)와 δ_C 155.6 (C-3), 141.1 (C-1), 120.7 (C-2) 간 HMBC 상관관계로 prenyl group은 A ring의 C-2 위치에 있음으로 확정하였다. NOESY spectrum에서 δ_H 5.07 (H-8)/δ_H 1.66 (H-10)의 correlation을 확인하여서 prenyl group의 methyl proton인 δ_H 1.74 (H-11), δ_H 1.66 (H-10)의 위치를 결정하였다. 그리고 C-13의 위치는 ECD spectrum의 측정으로 206 nm에서 positive Cotton effect, 244 nm에서 negative Cotton effect를 확인하였으며, calculated ECD spectrum (13*R*, 13*S*) 과 비교하여 절대구조 13*S*로 규명하였다. 이상의 모든 결과들을 토대로 화합물 **7**의 구조를 (*S*)-5-(4-hydroxyphenethyl)-2,2-dimethyl-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)chromane-3,7-diol로 최종 결정하였으며, 이를 3-dehyroxy gancaonin T 로 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 처음으로 발견되고 분리된 화합물이다.

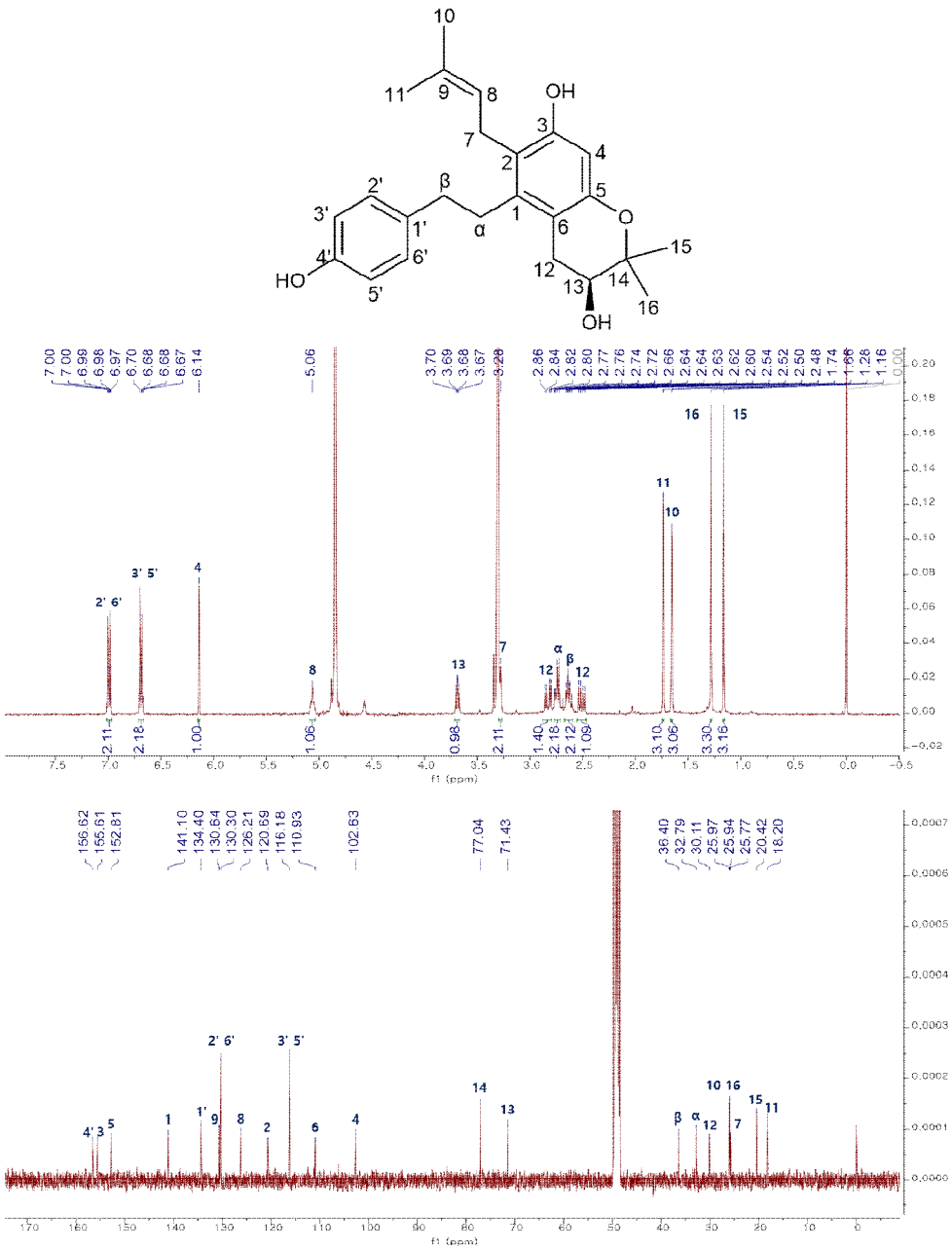


Figure 36. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **7** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

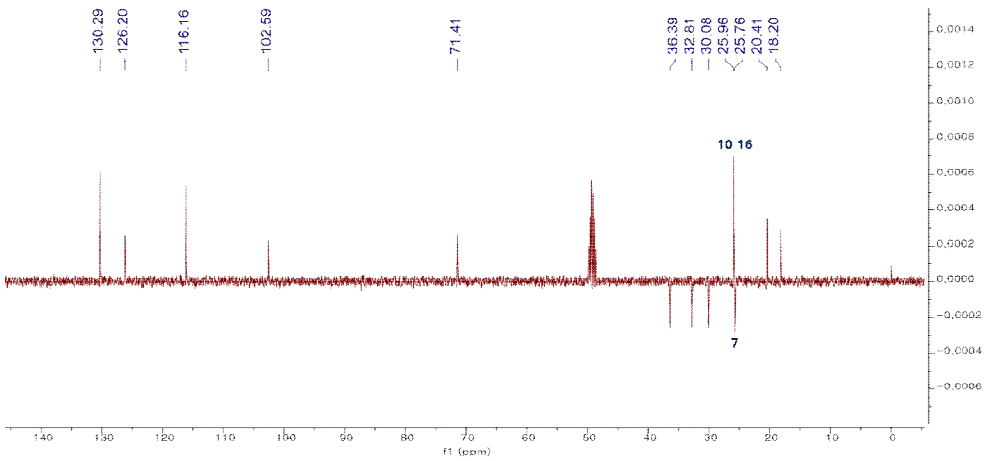


Figure 37. DEPT−135 spectrum of compound **7** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4)

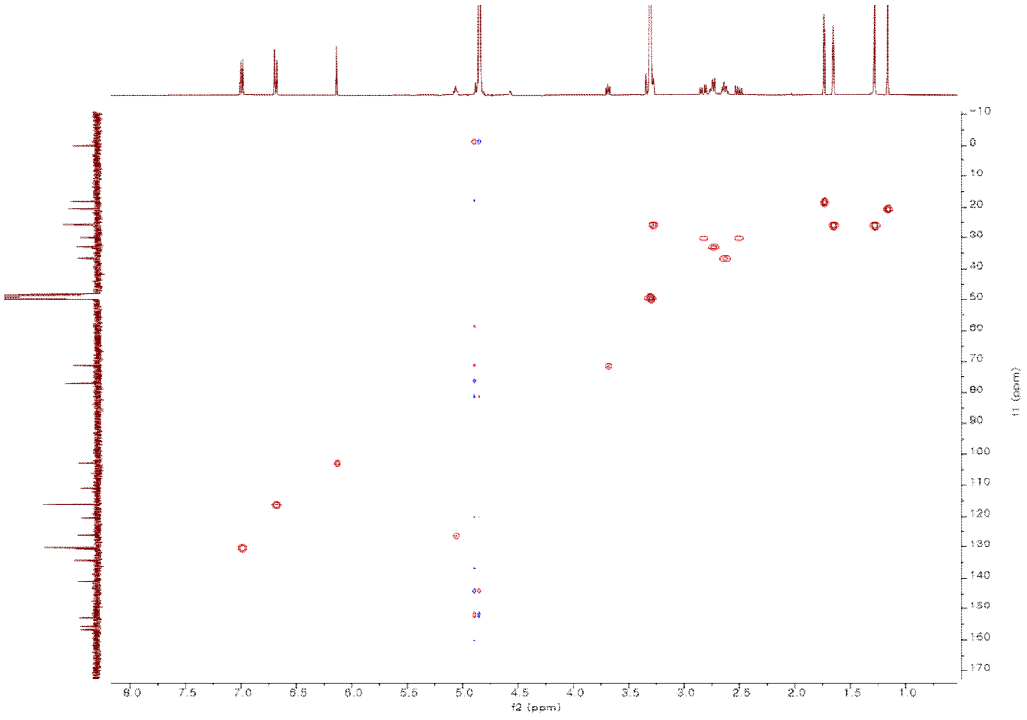


Figure 38. HSQC spectrum of compound **7** in MeOH−d_4

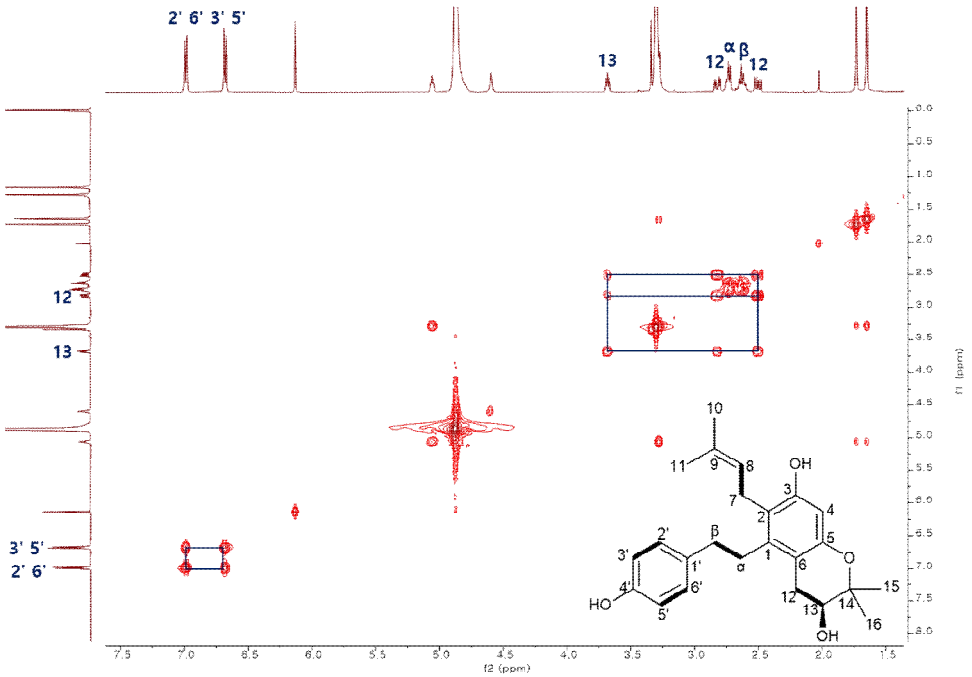


Figure 39. Key COSY correlations of compound 7 in MeOH−d_4

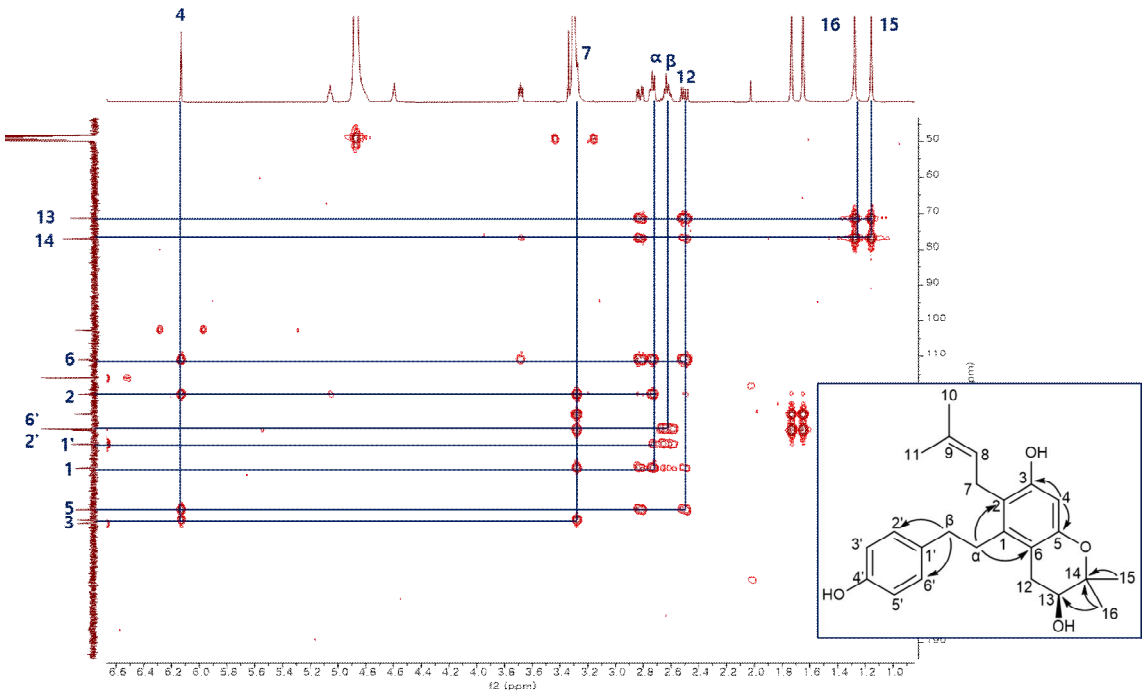


Figure 40. Key HMBC correlations of compound 7 in MeOH−d_4

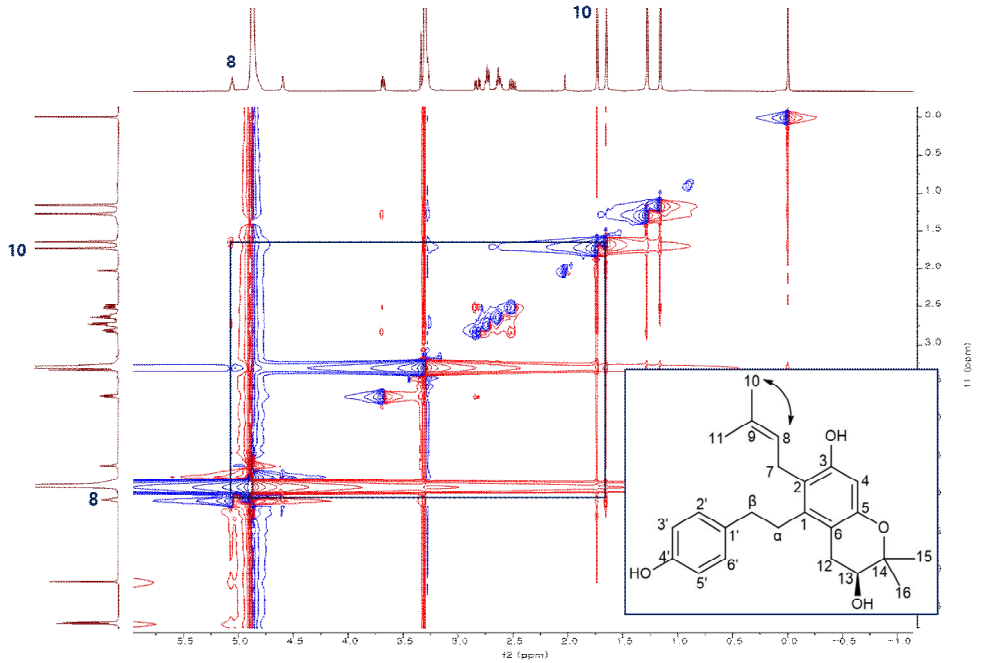


Figure 41. NOESY spectrum of compound **7** in MeOH−d_4

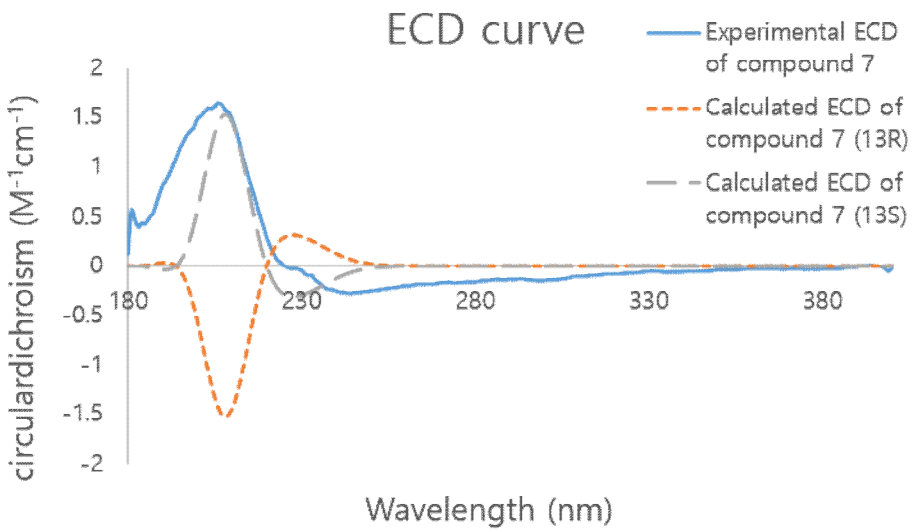


Figure 42. Calculated and experimental ECD spectra of compound **7**

3.1.8. 화합물 8

화합물 8은 갈색 무정형 고체 형태로, HRESIMS의 negative mode 측정 결과로 *m/z* 439.2122 $[M-H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{31}O_6$, 439.2121) 값을 가지고 분자식이 $C_{26}H_{32}O_5$이다. UV spectrum 극댓값은 202, 280 nm이다.

화합물 8은 C-3 위치에 acetyl group이 결합한 gancaonin T 화학구조 (3-acetyl gancaonin T)이다. Gancaonin T의 NMR 값과 비교하였을 때, acetyl group을 제외한 구조들은 유사한 패턴을 보였다 (Fukai et al., 1991). IR 스펙트럼에서 3310, 2986, 2884, 1742, 1601, 1515, 1377, 1229, 1148, 1094 cm^{-1} 흡수띠를 확인하였으며, 특히 1738 cm^{-1} 흡수띠로 phenyl group과 conjugation을 이룬 carbonyl group 및 1229 cm^{-1} 중간 세기 굽힘 흡수띠로 carbonyl group에 결합된 aryl group의 존재를 알 수 있었다.

^{1}H NMR spectrum에서 3개의 aromatic proton signals인 δ_H 6.66 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.58 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 6.49 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.1 Hz, H-6')는 B ring의 1,3,4-trisubstituted aromatic ring 위에 있으며, A ring에는 δ_H 6.34 (1H, s, H-4) 수소가 있음을 확인했다. δ_H 4.93 (overlapped, H-8), 3.20 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, H-7), 1.73 (3H, s, H-11), 1.66 (3H, s, H-10)는 prenyl moiety이며, δ_H 3.73 (1H, dd, *J* = 7.4, 5.5 Hz, H-13), 2.88 (1H, dd, *J* = 16.6, 5.5 Hz, H-12), 2.56 (2H, m, H-12), 1.29 (3H, s, H-16), δ_H 1.20 (3H, s, H-15)는 2,2-dimethyl-3-hydroxy-3,4-dihydro-2H-pyran 부분구조와 acetyl group의 methyl기 δ_H 2.22 (3H, s, 3-COOC<u>H$_3$</u>)를 확인하였다. ^{13}C NMR spectroscopic data와 DEPT-135 spectrum를 통해 이 화합물의 탄소는 5개의 methyl group, 4개의 methylene group, 5개의 methine group과 12개의 quaternary carbons으로, 총 26개의 탄소로 존재한다는 것을 확인하였다. HMBC

spectrum에서 나타난 δ_H 2.81 (H-α)/δ_C 141.9 (C-1), 125.1 (C-2), 118.3 (C-6)와 δ_H 6.58 (H-2'), δ_H 6.49 (H-6')/δ_C 36.4 (C-β) 상관관계를 통해 두 개의 aromatic ring이 methylene으로 연결된 dihydrostilbene임을 알 수 있었다. δ_H 6.66 (H-5')/δ_C 146.2 (C-3')와 δ_H 6.58 (H-2'), 6.49 (H-6')/δ_C 144.6 (C-4'), δ_H 6.34 (H-4)/δ_C 153.1 (C-5), 149.9 (C-3) HMBC correlation으로 δ_C 153.1 (C-5), 149.9 (C-3), 146.2 (C-3'), 144.6 (C-4') carbon signal은 산소가 연결되어 있는 olefinic carbon의 위치를 확인하여서 dihydropiceatannol 유도체임을 알 수 있었다. δ_H 3.20 (H-7)와 δ_C 149.9 (C-3), 141.9 (C-1), 125.1 (C-2) 간 HMBC 상관관계는 isopentenyl moiety가 A ring의 C-2에 직접 연결되어 있음을 나타내며, δ_H 3.73 (H-13)/δ_C 118.3 (C-6) 상관관계로 3,4-dihydropyran는 A ring의 C-5와 C-6 위치에 연결되었음을 확인하였다. δ_H 2.22 (3-COOC$\underline{H}_3$)/δ_C 171.6 (3-$\underline{C}$OO), 149.9 (C-3) HMBC 상관관계와 NOESY spectrum의 δ_H 3.20 (H-7)/δ_H 2.22 (3-COOC$\underline{H}_3$) 상관관계로 acetyl group은 C-3 위치에 있음을 결정하였다. 또한 NOESY spectrum에 나타난 δ_H 4.93 (H-8)/δ_H 1.66 (H-10) 상관관계로 isopentenyl moiety의 methyl group의 NMR 값을 할당할 수 있었다. ECD spectrum의 측정으로 198 nm에서 positive Cotton effect, 222 nm에서 negative Cotton effect를 확인하였으며, C-13의 위치는 calculated ECD spectrum (13*R*, 13*S*)과 비교하여 절대구조 13S로 규명할 수 있었다. 다음의 결과들을 종합하여서 화합물 **8**을 (*S*)-5-(3,4-dihydroxyphenethyl)-3-hydroxy-2,2-dimethyl-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)chroman-7-yl acetate로 최종 결정하였으며 이를 3-acetyl gancaonin T 로 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 처음으로 분리보고되는 화합물이다.

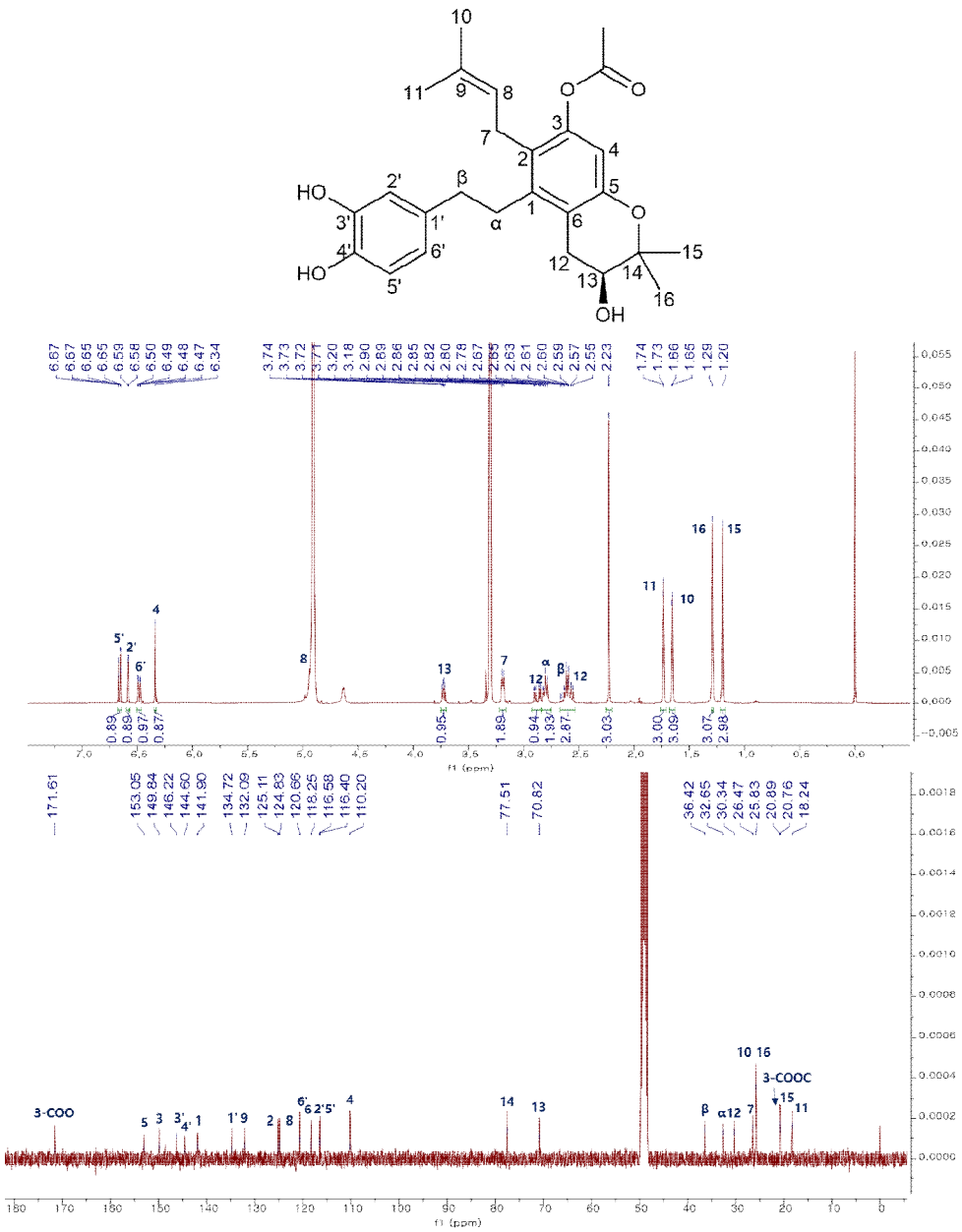


Figure 43. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **8** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

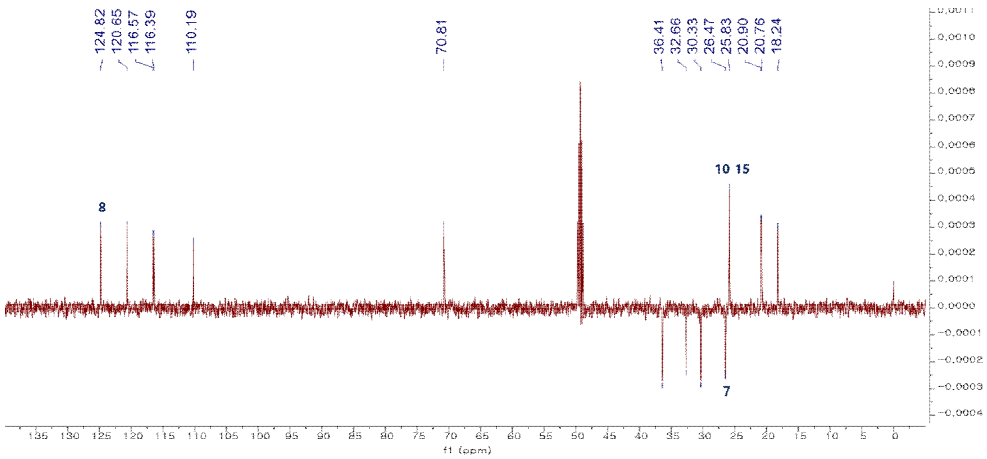


Figure 44. DEPT−135 spectrum of compound **8** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4

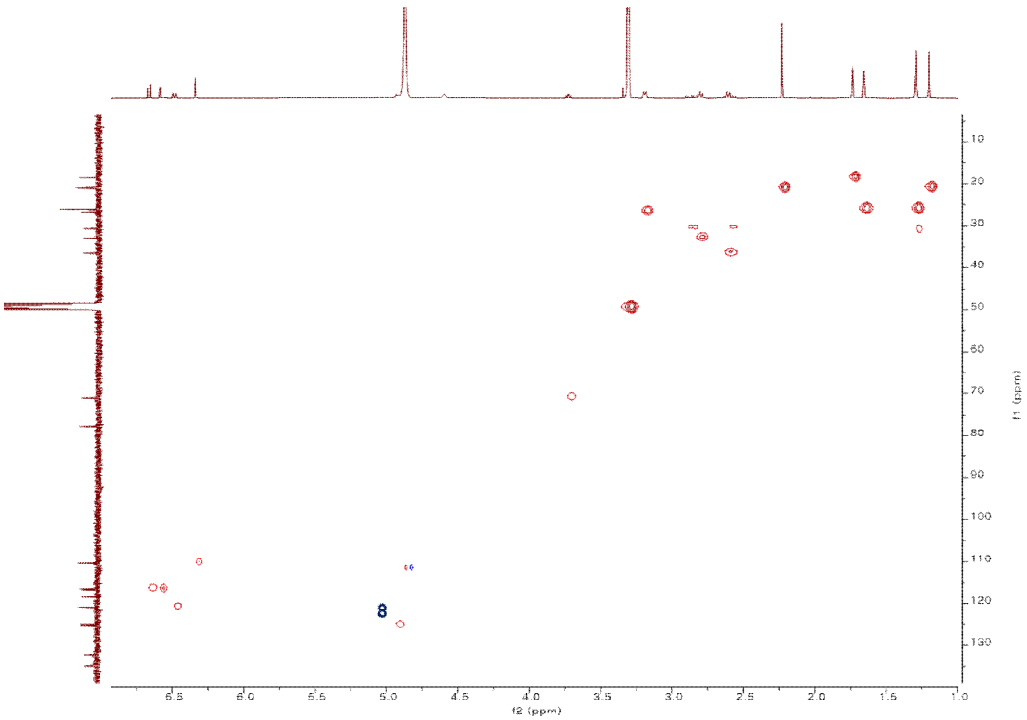


Figure 45. HSQC spectrum of compound **8** in MeOH−d_4

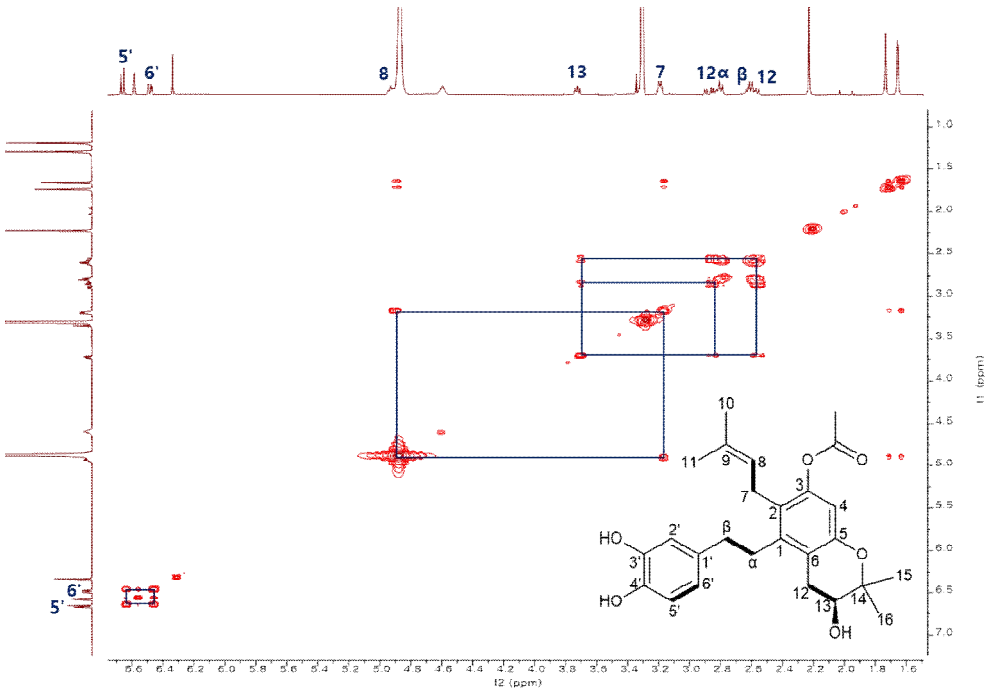


Figure 46. Key COSY correlations of compound **8** in MeOH−d_4

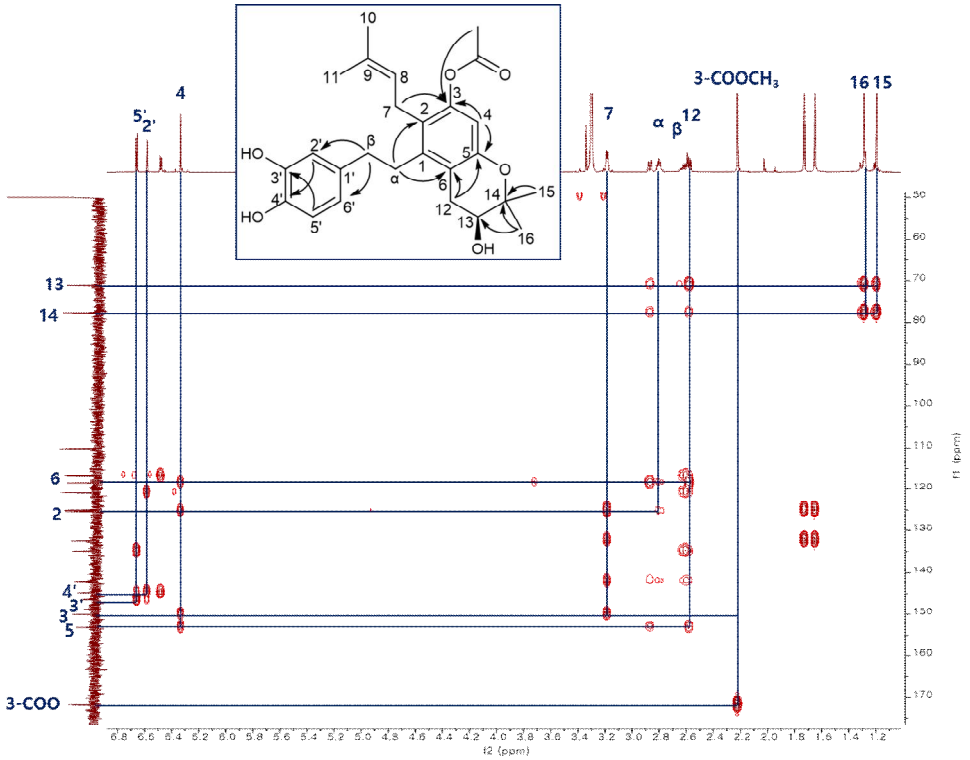


Figure 47. Key HMBC correlations of compound **8** in MeOH−d_4

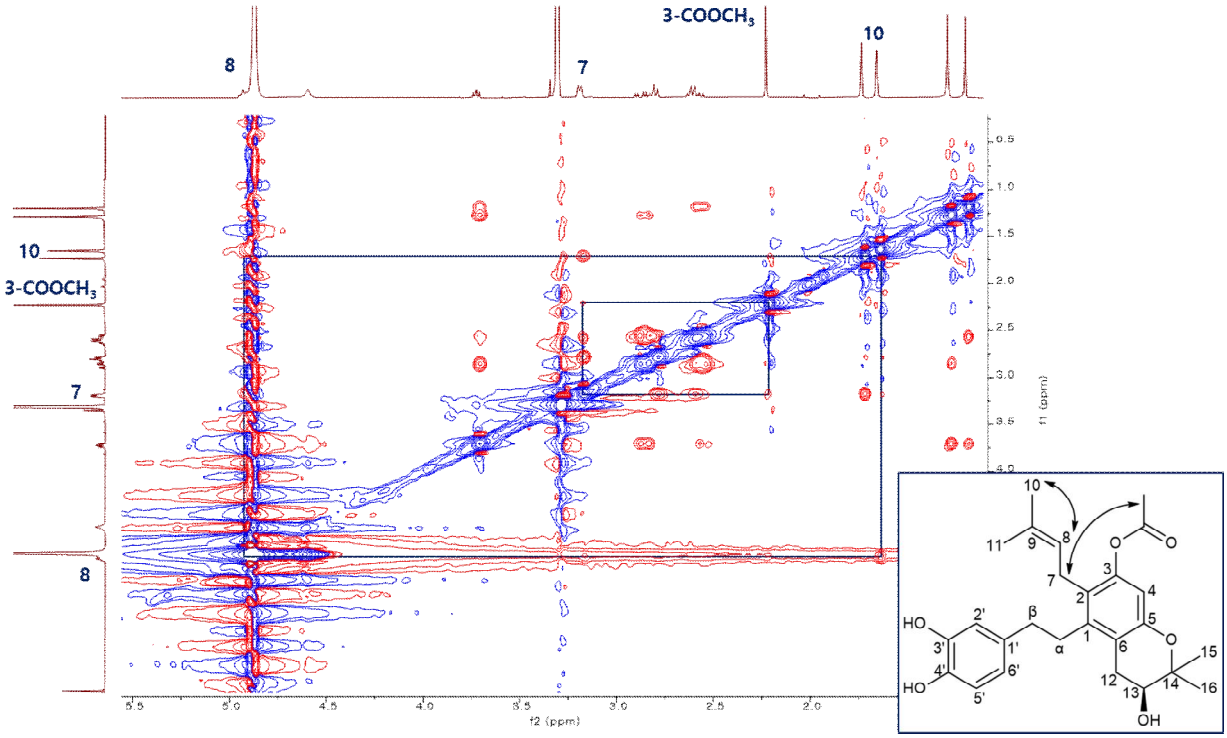


Figure 48. NOESY spectrum of compound **8** in MeOH−d_4

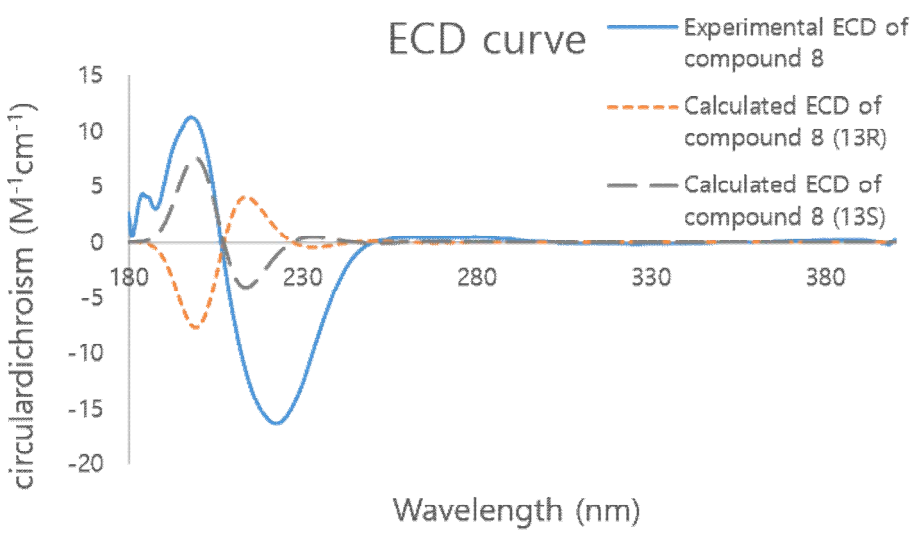


Figure 49. Calculated and experimental ECD spectra of compound **8**

3.1.9. 화합물 9

화합물 9는 갈색 무정형 고체 형태로, HRESIMS 측정 결과 $C_{24}H_{30}O_4$ 분자식을 갖고, HRESIMS: *m/z* 381.2065 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{24}H_{29}O_4$, 381.2066)의 값을 나타내는 물질임을 확인하였다. UV spectrum 극댓값은 201, 287 nm이다. 화합물 9는 화합물 8의 ^1H 와 ^{13}C NMR spectrum과 비교하였을 때, dihydro-resveratrol 기본 골격과 하나의 prenyl group 패턴이 유사하게 나타났지만, 화합물 7의 C ring인 dihydropyran group 부분에서 확연한 차이가 확인되었다. 화합물 9의 C ring은 prenyl moiety가 *ortho*-hydroxy group과 함께 환화되어서 2-(2-hydroxypropan-2-yl)-2,3-dihydrofuran group이 형성되었음을 유추할 수 있다.

^1H NMR spectrum에서 4개의 aromatic proton signals인 δ_H 6.93 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', H-6'), 6.66 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', H-5')는 B ring의 *para* disubstituted benzene 위에 있으며, 또 다른 벤젠 고리 위에는 δ_H 6.11 (1H, s, H-4) 수소가 있으며, δ_H 5.07 (1H, t, J = 6.5 Hz, H-8), 3.24 (1H, d, J = 6.5 Hz, H-7), 1.74 (3H, s, H-11), 1.66 (3H, s, H-10)는 prenyl moiety이며, δ_H 4.42 (1H, t, J = 8.8 Hz, H-13), 2.78 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-12), 1.16 (6H, s, H-15, H-16)는 2-(2-hydroxypropan-2-yl)-2,3-dihydrofuran 부분구조인 C ring moiety를 이룬다. HSQC spectrum을 통해 각각의 수소는 δ_C 90.5 (C-13), 30.6 (C-12), 25.2 (C-15, C-16)로 연결된다. HMBC spectrum에서 δ_H 1.16 (H-15, H-16)은 δ_C 90.5 (C-13), 72.7 (C-14) 와 상관관계를 가지며 COSY 상관관계로 δ_H 4.42 (H-13) 와 δ_H 2.78 (H-12)가 연결되어 있음을 확인하였다. δ_H 2.78 (H-12)/δ_C 159.3 (C-5), 118.3 (C-6) HMBC 상관관계 결과로 이 부분구조가 A ring의 C-5와 C-6에 연결되어있음을 확인하였다. C ring이 dihydrofuran group인 사실은 참고문헌을 통해 dihydrofuran과

dihydropyran group의 13번 탄소의 확연하게 차이가 나는 chemical shift를 통해 알 수 있었다 (Pailee et al., 2015). δ_H 3.24 (H-7)와 δ_C 156.4 (C-3), δ_C 138.2 (C-1), δ_C 119.2 (C-2) 간 HMBC 상관관계로 prenyl group은 A ring의 C-2 위치에 있음으로 확정하였다. NOESY spectrum에서 δ_H 5.07 (H-8)/δ_H 1.66 (H-10)의 correlation을 확인하여서 prenyl moiety의 methyl기의 수소 위치를 확정하였다. ECD spectrum의 측정으로 186 nm에서 positive Cotton effect, 211 nm에서 negative Cotton effect를 확인하였으며, C-13의 위치는 calculated ECD spectrum (13*R*, 13*S*)과 비교하여 절대구조 13S로 규명할 수 있었다. 위의 결과들을 종합하여서 화합물 9의 구조는 (*S*)-4-(4-hydroxyphenethyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)-2,3-dihydrobenzofuran-6-ol로 최종 결정하였으며, jacovulgarin E로 명명하였다. 이 화학구조는 천연물에서 처음으로 발견된 화합물이다.

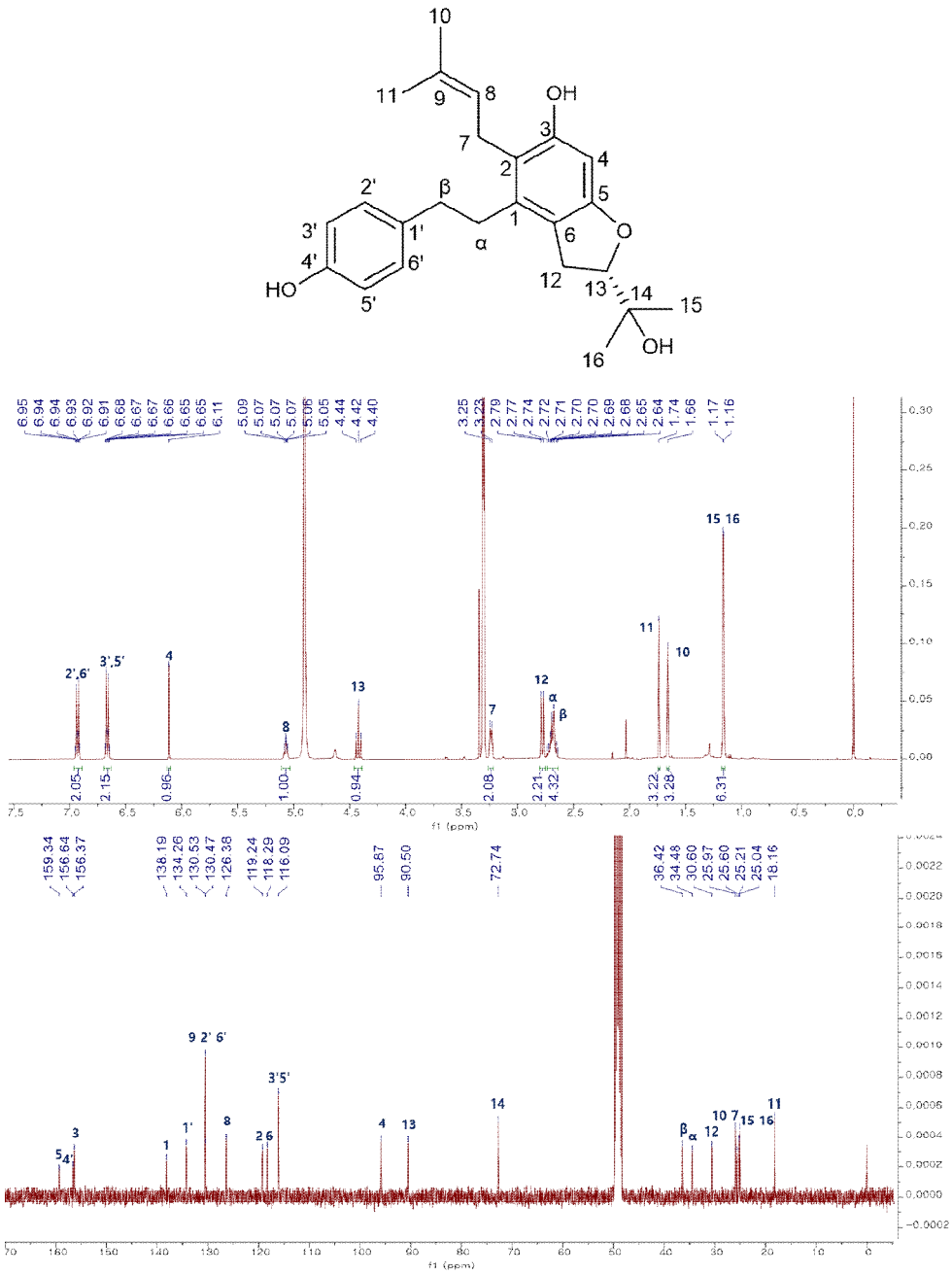


Figure 50. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **9** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

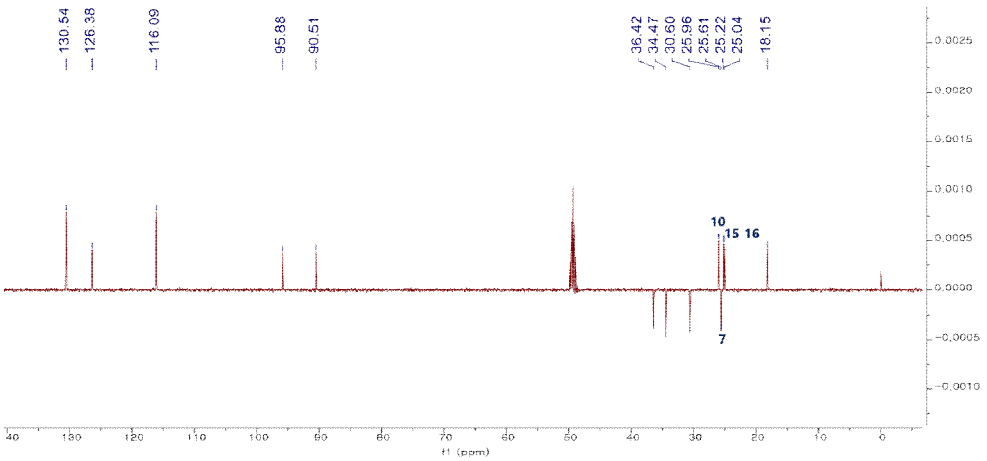


Figure 51. DEPT−135 spectrum of compound **9** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4)

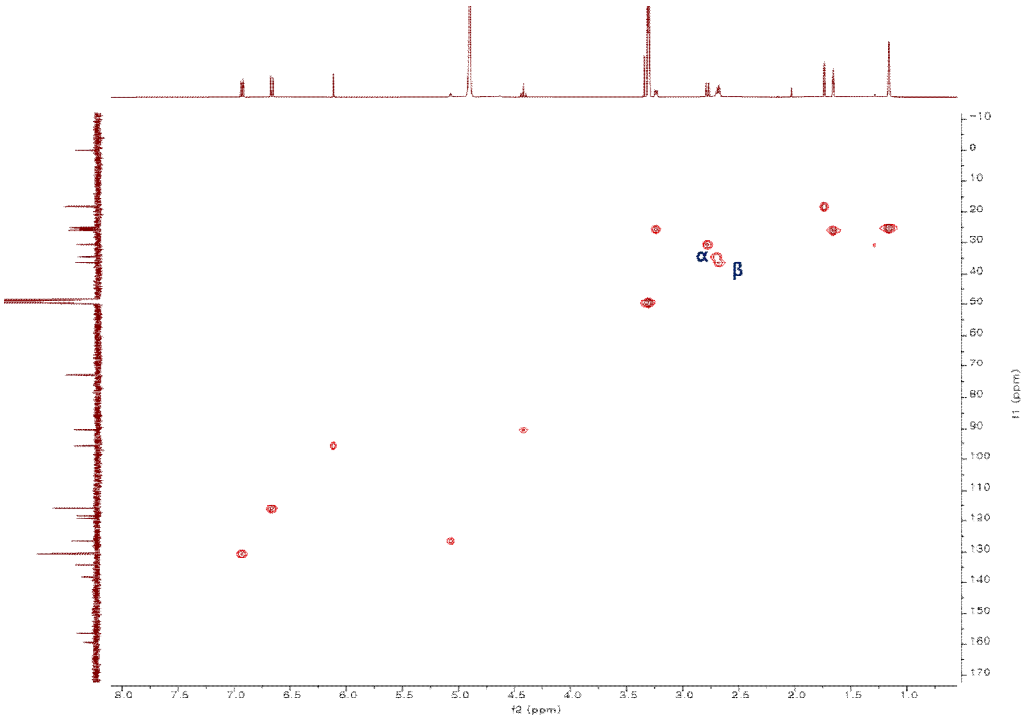


Figure 52. HSQC spectrum of compound **9** in MeOH−d_4

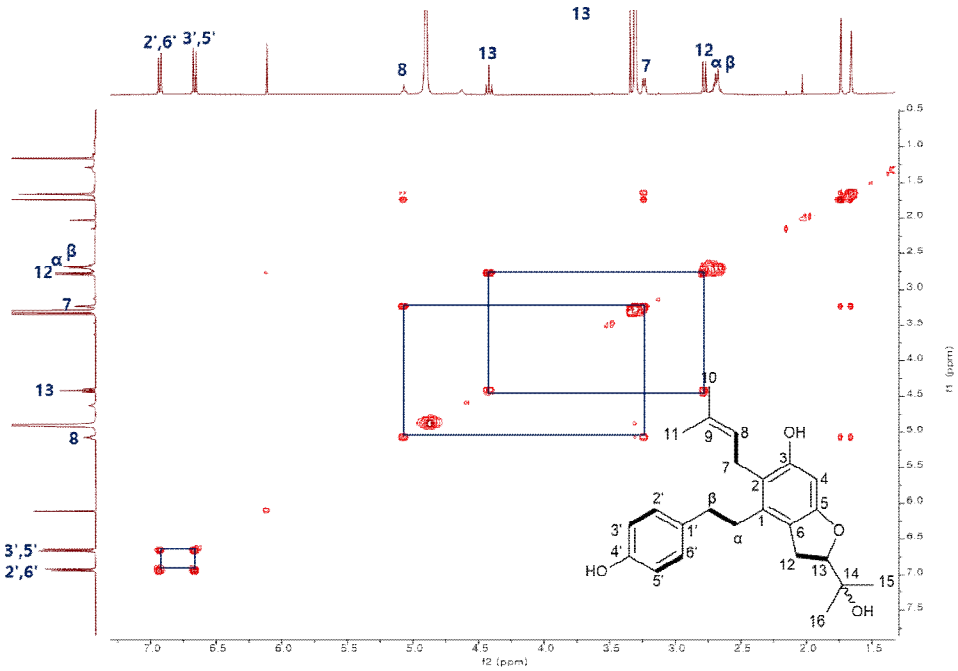


Figure 53. Key COSY correlations of compound **9** in MeOH−d_4

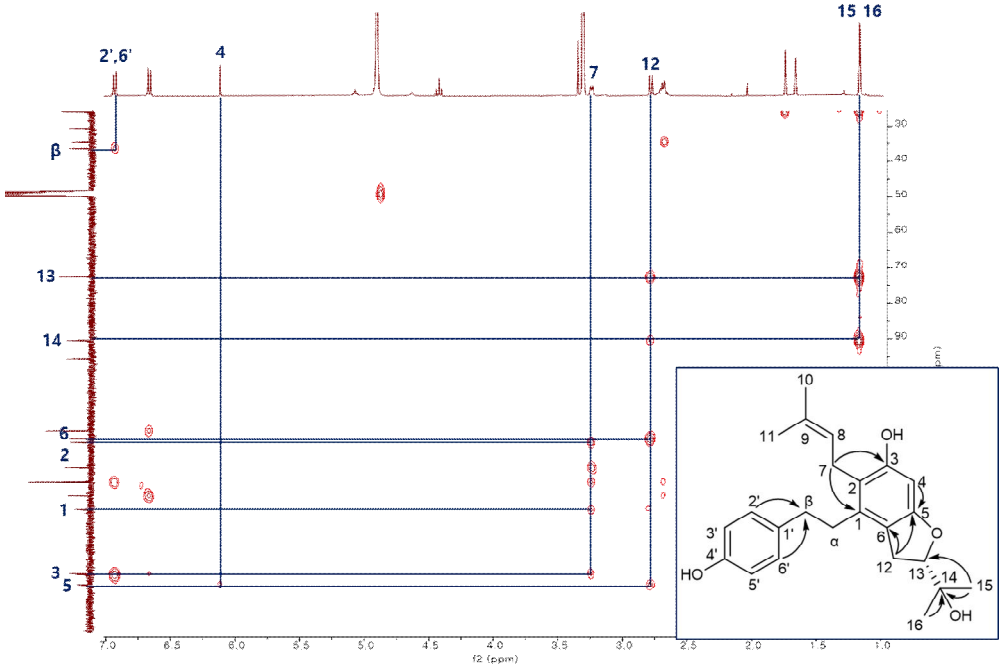


Figure 54. Key HMBC correlations of compound **9** in MeOH−d_4

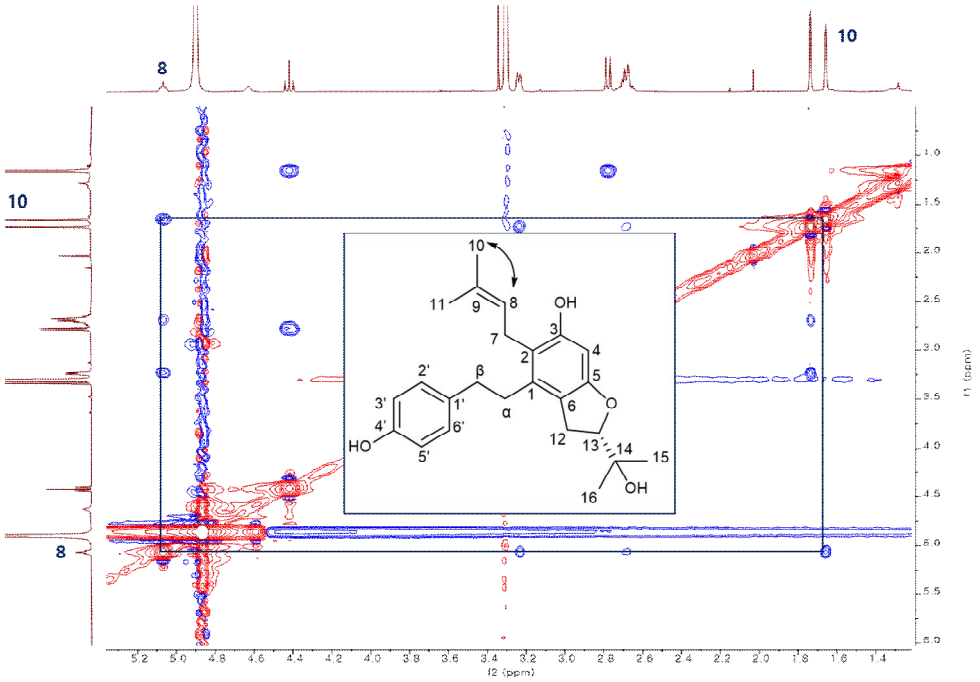


Figure 55. NOESY spectrum of compound **9** in MeOH−d_4

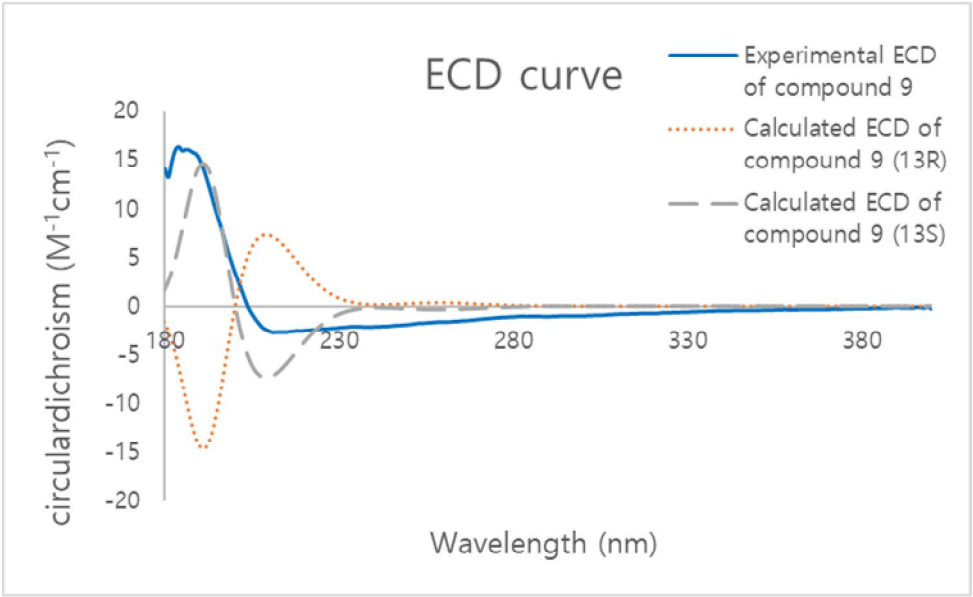


Figure 56. Calculated and experimental ECD spectra of compound **9**

3.1.10. 화합물 10

화합물 10은 갈색 무정형 고체 형태로, HRESIMS 측정을 통하여 negative mode에서 HRESIMS *m/z* 411.2184 $[M - H]^-$ (calcd for 411.2171)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{25}H_{32}O_5$이다. UV spectrum 극댓값은 202, 284 nm이다. 화합물 10은 화합물 9의 화학구조와 비교하였을 때, 화합물 9의 B ring 위에 있는 C-3', C-4'에 각각 hydroxy group, methoxy group으로 치환된 구조를 가지며, ^1H 와 ^{13}C NMR spectrum과의 비교에서도 B ring 부분 구조를 제외한 다른 구조들의 NMR 값은 유사한 것을 확인했다.

HMBC spectrum에서 나타난 δ_H 2.72 (H-α)/δ_C 119.2 (C-6), 118.3 (C-2)와 δ_H 2.64 (H-β)/ δ_C 136.5 (C-1'), 120.7 (C-6'), 116.7 (C-2') 상관관계를 통해 dihydrostilbene 화합물임을 확인하였고, δ_H 6.80 (H-5')/δ_C 147.4 (C-3'), δ_H 6.56 (H-6')/δ_C 147.4 (C-4'), δ_H 6.12 (H-4)/δ_C 159.3 (C-5), 156.4 (C-3) HMBC correlation으로 δ_C 159.3 (C-5), 156.4 (C-3), 147.4 (C-3'), 147.4 (C-4') carbon signal은 산소가 연결되어 있는 olefinic carbon의 위치를 확인하여서 dihydropiceatannol derivatives임을 알 수 있었다. δ_H 3.25 (H-7)와 δ_C 156.4 (C-3), 138.2 (C-1), 118.3 (C-2) 간 상관관계로 A ring C-3는 δ_C 156.4임을 확인하고, 이 prenyl group은 A ring의 C-2 위치로 확정하였다. δ_H 2.80 (H-13)/δ_C 159.3 (C-5), 138.2 (C-1)와 δ_H 4.43 (H-13)/δ_C 159.3 (C-5) HMBC 상관관계 결과로 dihydrofuran group이 A ring의 C-5, C-6에 연결되어 있음을 결정하였으며, A ring C-5는 δ_C 159.3임을 확인하였다. 그리고 C-13의 위치는 ECD spectrum의 측정으로 186 nm에서 positive Cotton effect와 221 nm에서 negative Cotton effect를 확인하였으며, calculated ECD spectrum (13*R*, 13*S*)과 비교하여 절대구조 13*S*로 규명할 수 있었다. 위의 결과들을 토대로 화합물 10의 화학구조를

(*S*)−4−(3−hydroxy−4−methoxyphenethyl)−2−(2−hydroxypropan−2−yl)−5−(3−methylbut−2−en−1−yl)−2,3−dihydrobenzofuran−6−ol로 최종 결정하였고, jacovulgarin F로 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 처음으로 분리 보고되는 화합물이다.

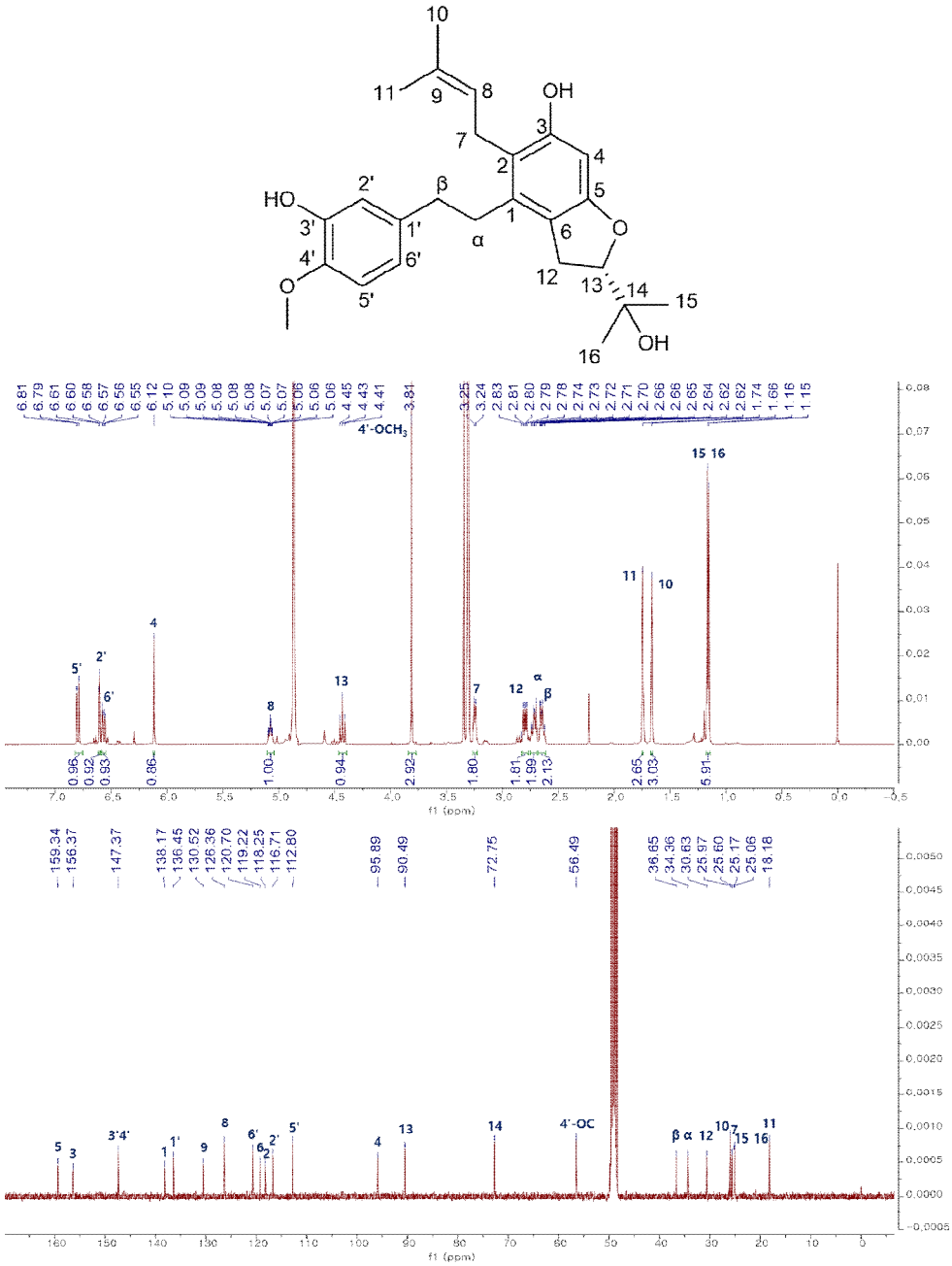


Figure 57. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **10** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

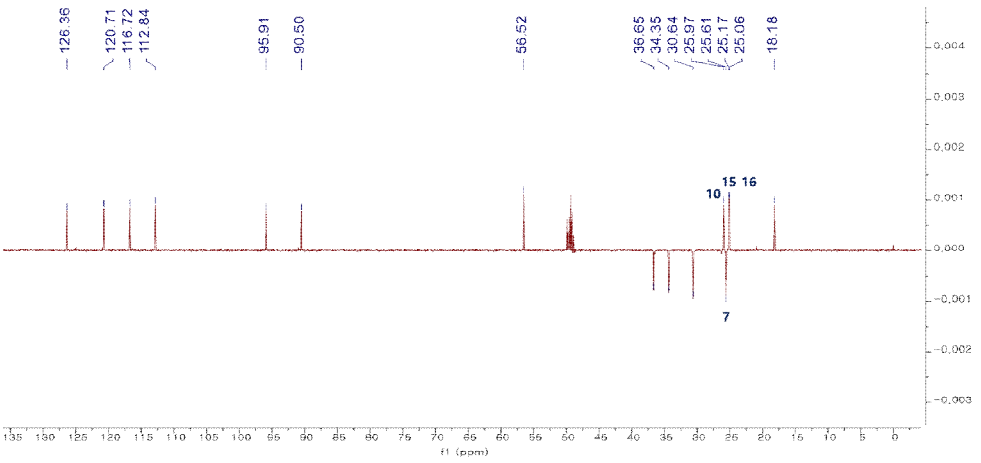


Figure 58. DEPT−135 spectrum of compound **10** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4)

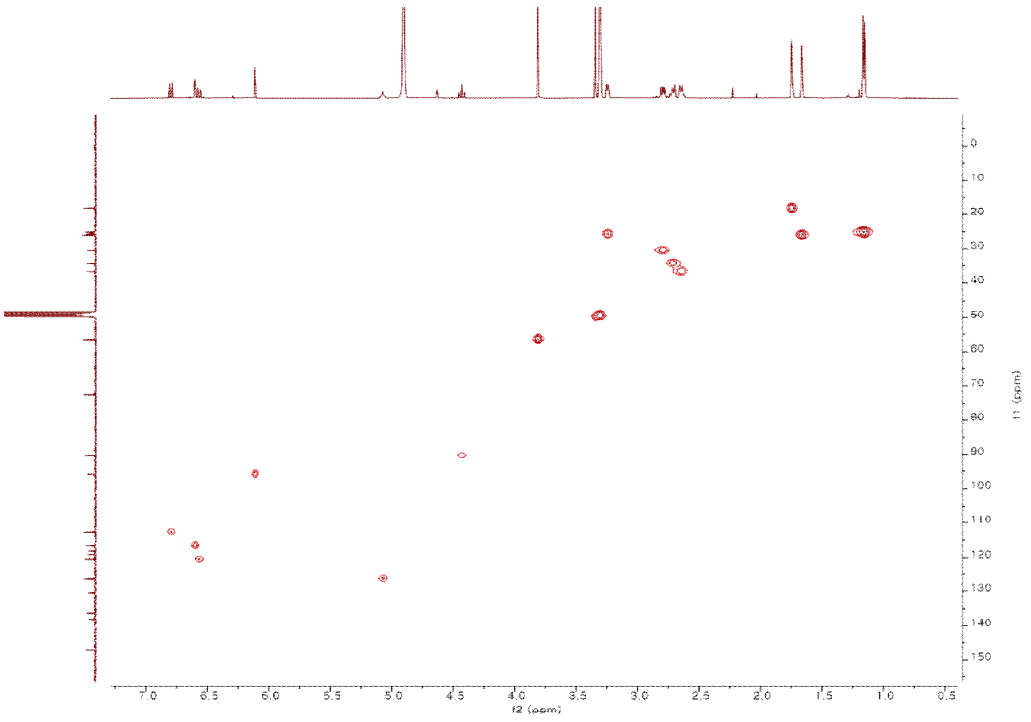


Figure 59. HSQC spectrum of compound **10** in MeOH−d_4

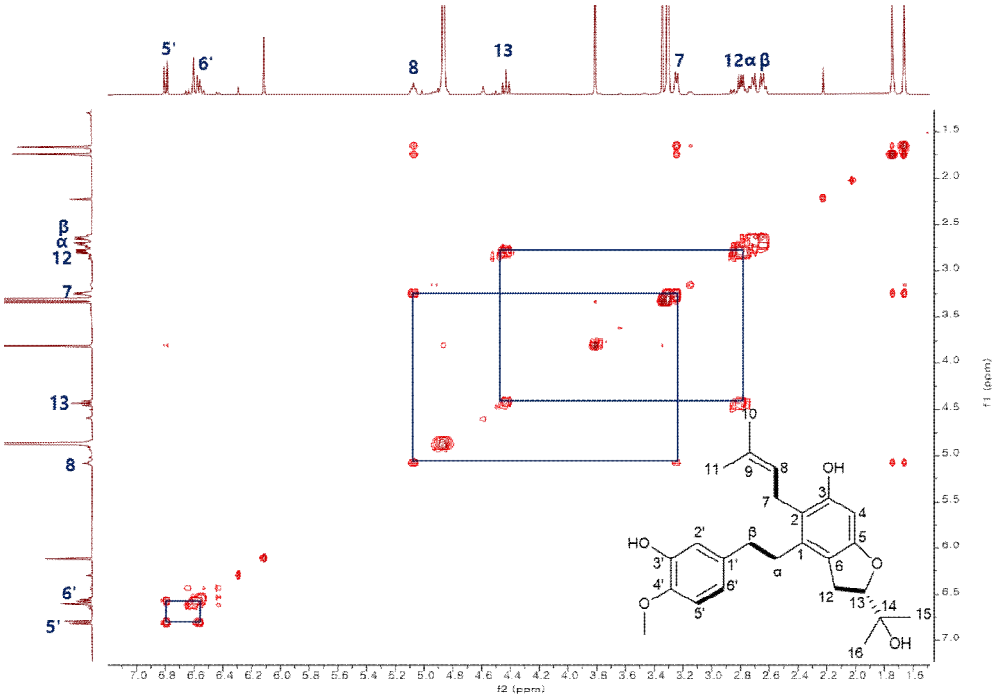


Figure 60. Key COSY correlations of compound **10** in MeOH−d_4

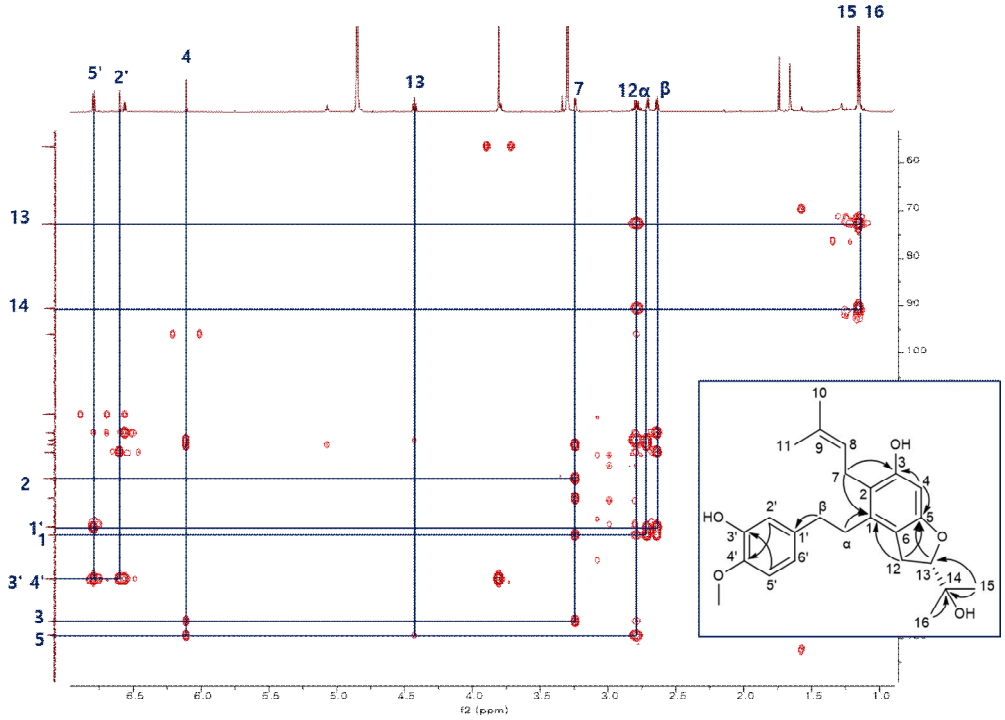


Figure 61. Key HMBC correlations of compound **10** in MeOH−d_4

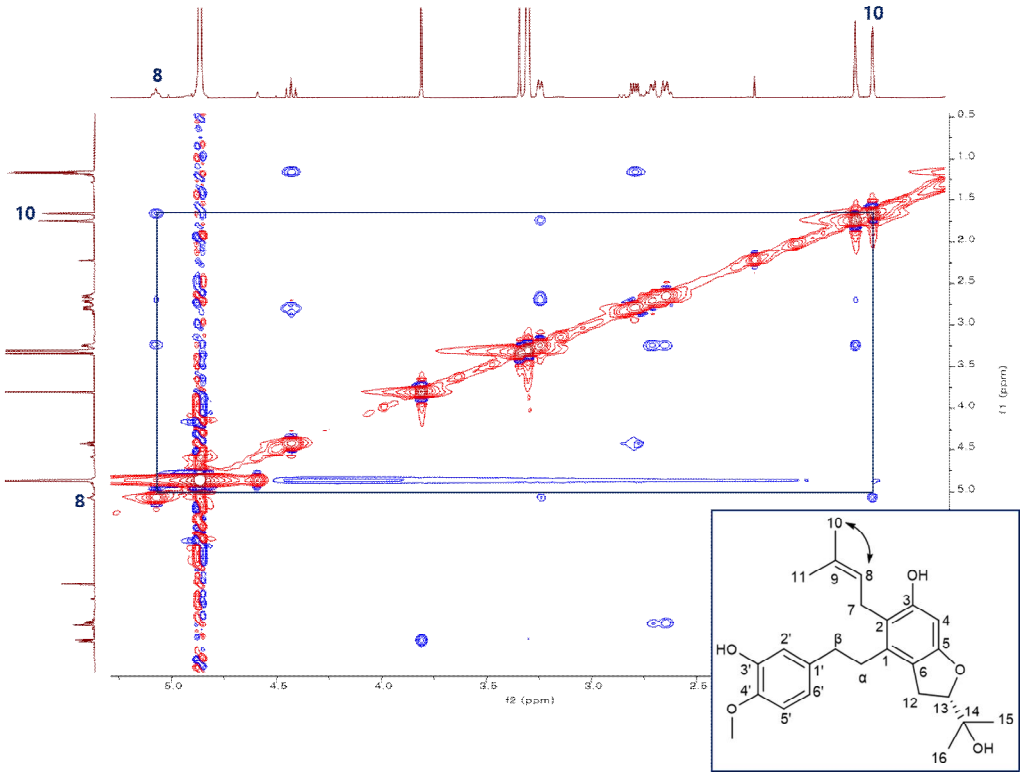


Figure 62. NOESY spectrum of compound **10** in MeOH−d_4

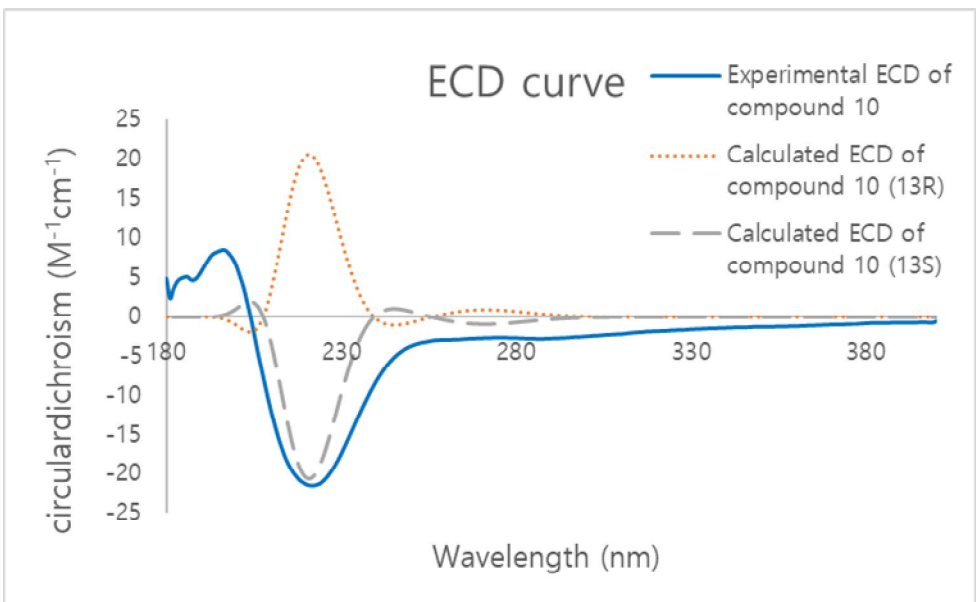


Figure 63. Calculated and experimental ECD spectra of compound **10**

3.1.11. 화합물 **11**

화합물 **11**은 갈색 무정형 분말 성상을 가지며, HRESIMS 측정을 통하여 negative mode에서 *m/z* 379.1540 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{23}H_{23}O_5$, 379.1545)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{23}H_{24}O_5$이다. IR 스펙트럼에서 3328, 2926, 1752, 1610, 1518, 1365, 1230, 1080, 891 cm^{-1} 흡수띠 중에서 1752, 1230 cm^{-1} 흡수띠를 통해 carbonyl group과 이에 결합된 aryl group의 존재를 확인하였다. UV spectrum 극댓값은 202, 256, 291, 325 nm이다.

^{1}H NMR spectrum에서 δ_H 6.65 (1H, d, J = 8.0 Hz, H−5'), 6.57 (1H, d, J = 2.0 Hz, H−2'), 6.45 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H−6') proton signal은 1,3,4−trisubstituted aromatic ring 위에 있으며, 또 다른 벤젠 고리 위에는 δ_H 7.09 (1H, s, H−4) 수소가 있음을 확인하였다. COSY spectrum을 통해서 δ_H 7.69 (1H, d, J = 2.2 Hz, H−13), δ_H 6.79 (1H, d, J = 2.2 Hz, H−12)는 상관관계가 있는 olefinic proton으로 coupling constant를 고려하여서 benzofuran moiety 부분 구조를 예상할 수 있었다 (Pretsch et al., 2009). 그리고 한 쌍의 prenyl moiety를 구성하는 δ_H 4.94 (1H, m, H−8), δ_H 3.27 (2H, d, J = 6.0 Hz, H−7), 1.76 (3H, s, H−11)과 1.67 (3H, s, H−10), methylene group proton인 δ_H 3.07 (2H, m, H−α), 2.72 (2H, m, H−β)와 acetyl group에 methyl group δ_H 2.27 (3H, s, 3−COOC<u>H$_3$</u>)를 확인하였다. ^{13}C NMR spectroscopic data와 DEPT−135 spectrum를 통해 이 화합물의 탄소는 3개의 methyl group, 3개의 methylene group, 7개의 methine group과 10개의 quaternary carbons으로, 총 23개의 탄소로 존재한다는 것을 확인하였다. COSY 스펙트럼에서 δ_H 3.07 (H−α)과 δ_H 2.72 (H−β)는 상관관계를 가지고, HMBC spectrum에서의 δ_H 3.07 (H−α) 수소 피크는 δ_C 135.0 (C−1), 127.8 (C−2), 126.9 (C−6) 탄소 피크 사이에

상관관계와, δ_H 2.72 (H-β)는 δ_C 134.6 (C-1'), 120.8 (C-6'), 116.7 (C-2')와의 상관관계를 통해 화합물 **11**은 dihydrostilbene임을 알 수 있었다. δ_H 7.09 (H-4)/δ_C 154.1 (C-5), 148.2 (C-3), δ_H 6.65 (H-5')/δ_C 146.2 (C-3'), δ_H 6.45 (H-6')/δ_C 144.6 (C-4') HMBC correlation을 통해서 δ_C 154.1 (C-5), 148.2 (C-3), 146.2 (C-3'), 144.6 (C-4') carbon signal은 산소가 연결되어 있는 olefinic carbon의 위치를 확인하여서 dihydropiceatannol 기본 골격임을 알 수 있었다. δ_H 3.27 (H-7)와 δ_C 148.2 (C-3), δ_C 135.0 (C-1), 127.8 (C-2) 간 상관관계로 A ring C-3는 δ_C 148.2임을 확인하고, 이 prenyl group은 A ring의 C-2 위치에 있음으로 확정하였다. δ_H 7.69 (H-13)/δ_C 154.1 (C-5), 126.9 (C-6) 와 δ_H 6.79 (H-12)/δ_C 154.1 (C-5) HMBC 상관관계 결과로 furan moiety는 A ring의 C-5, C-6에 연결되어 있음을 결정하였으며, A ring C-5는 δ_C 154.1임을 확인했다. δ_H 2.27 (3-COOC$\underline{H}_3$)/δ_C 171.8 (3-$\underline{C}$OO) 과 δ_H 2.27(3-COOC$\underline{H}_3$)/δ_C 148.2(C-3)의 HMBC spectrum (optimized at long range J = 2 Hz)을 통해 acetyl group 부분 구조가 C-3 위치에 있음을 증명하였다. NOESY spectrum으로 δ_H 4.94 (H-8)/δ_H 1.67 (H-10)의 correlation을 확인하여서 prenyl moiety의 methyl proton의 위치를 확정하였다. 이상의 모든 결과들을 종합하여서 화합물 11을 4-(3,4-dihydroxyphenethyl)-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)benzofuran-6-yl acetate로 최종 결정하였으며, 이를 jacovulgarin G로 명명하였다. 이 구조는 천연물에서 새롭게 분리보고되는 화합물이다.

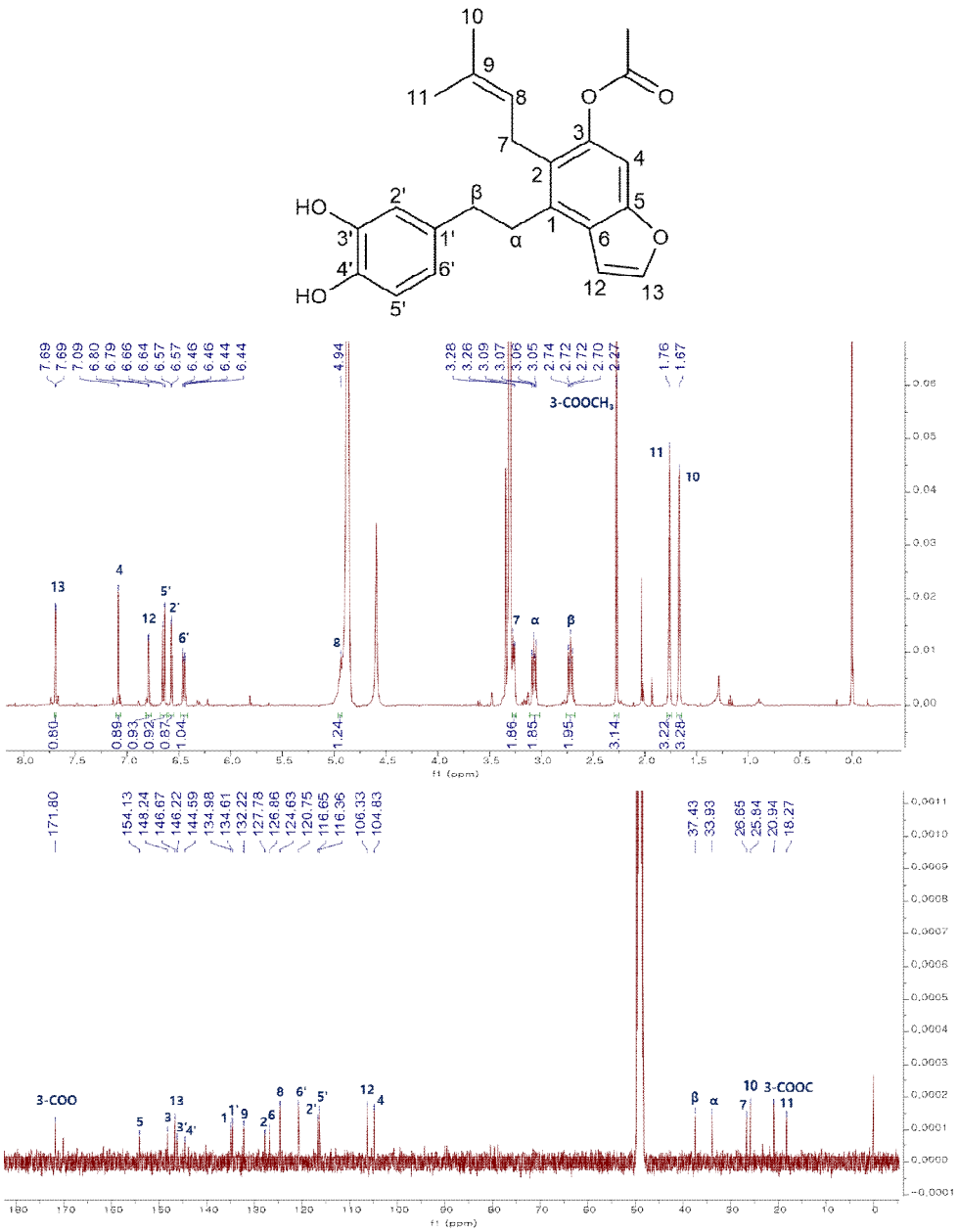


Figure 64. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **11** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

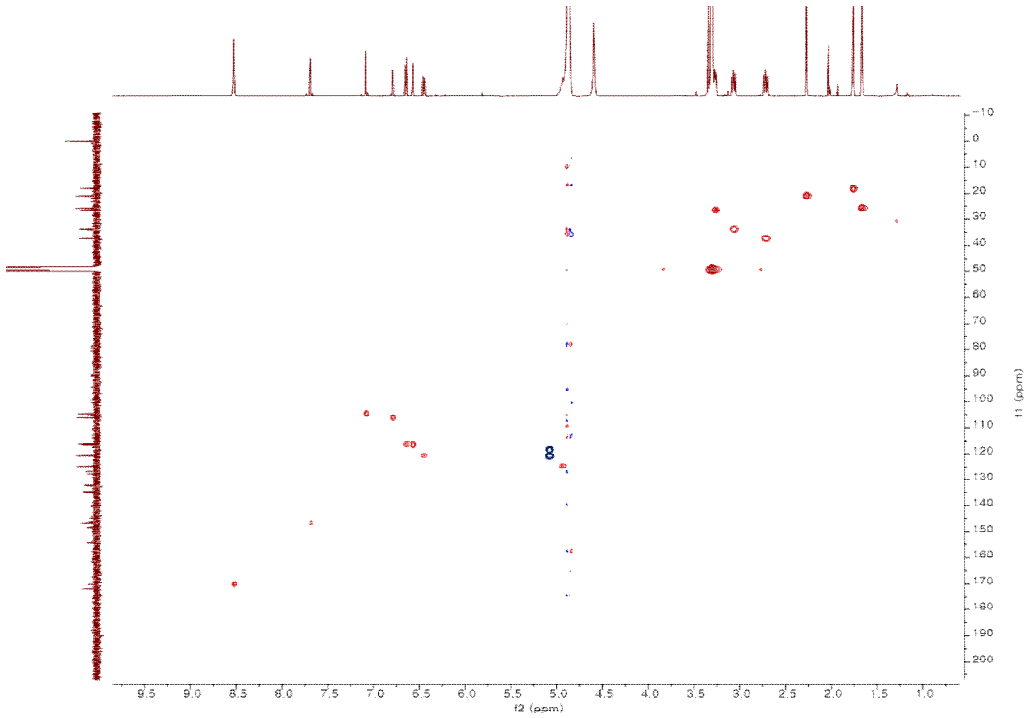


Figure 65. HSQC spectrum of compound **11** in MeOH−d_4

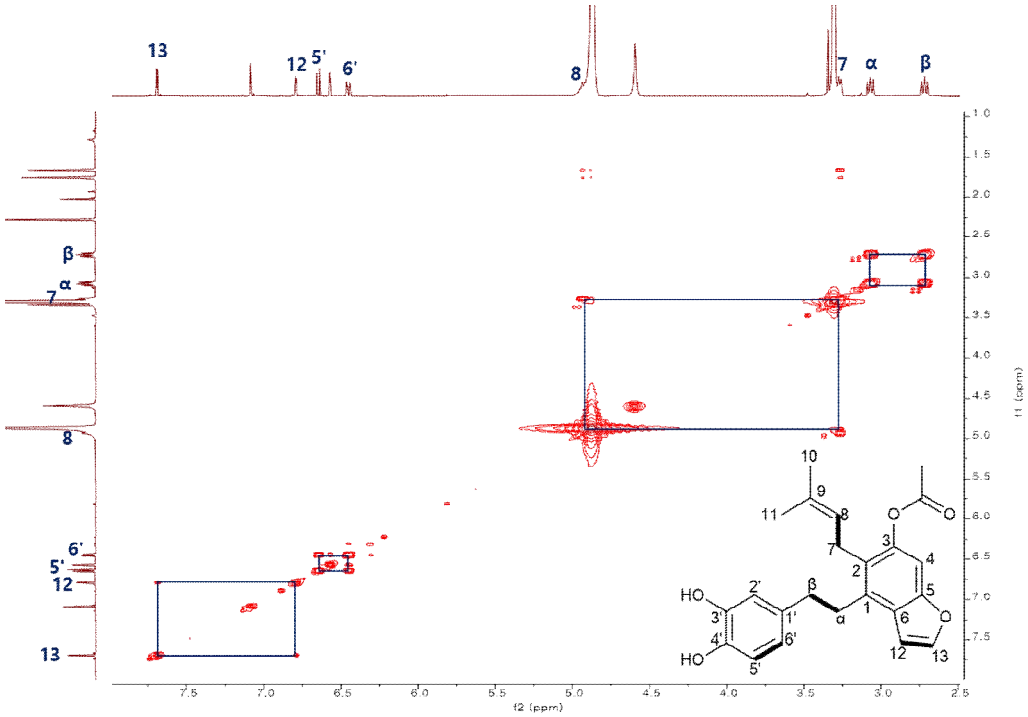


Figure 66. Key COSY correlations of compound **11** in MeOH−d_4

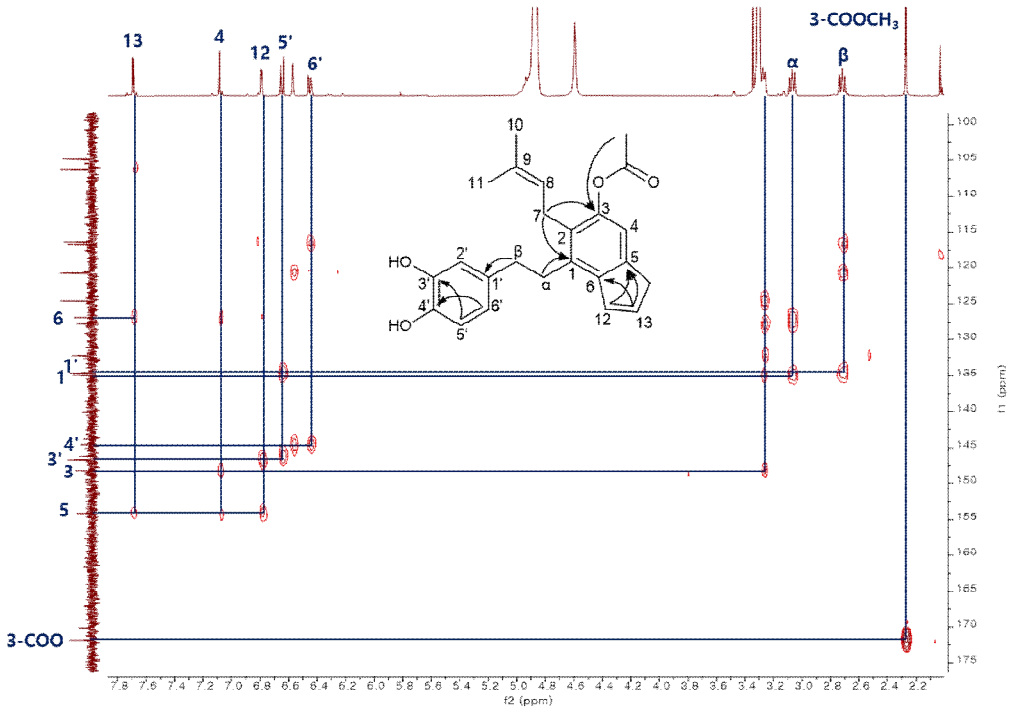


Figure 67. Key HMBC correlations of compound **11** in MeOH−d_4

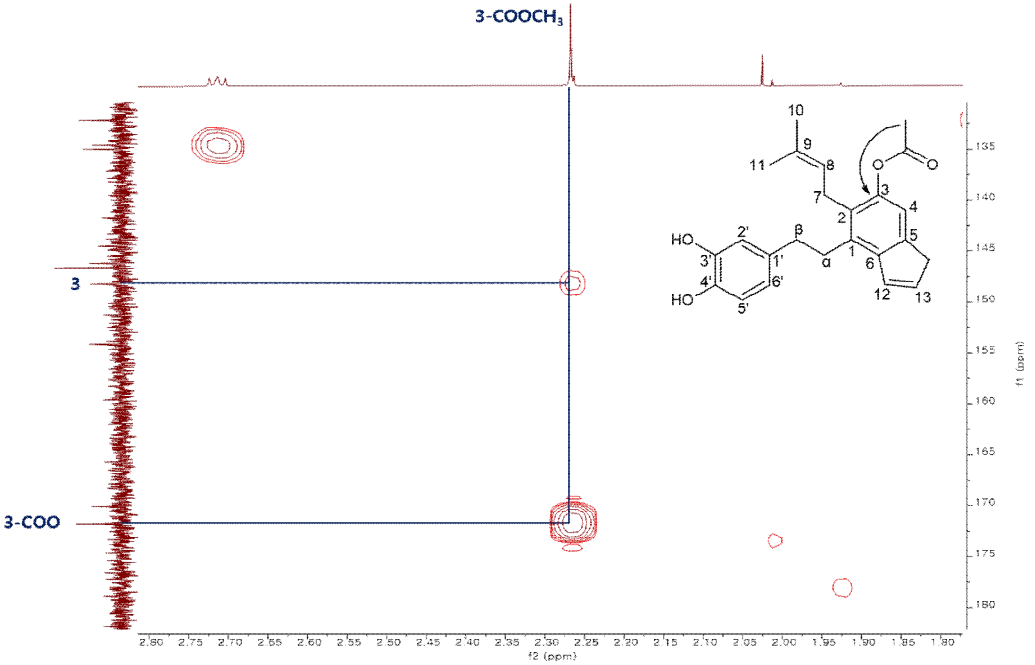


Figure 68. Key HMBC correlations of compound **11** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz)

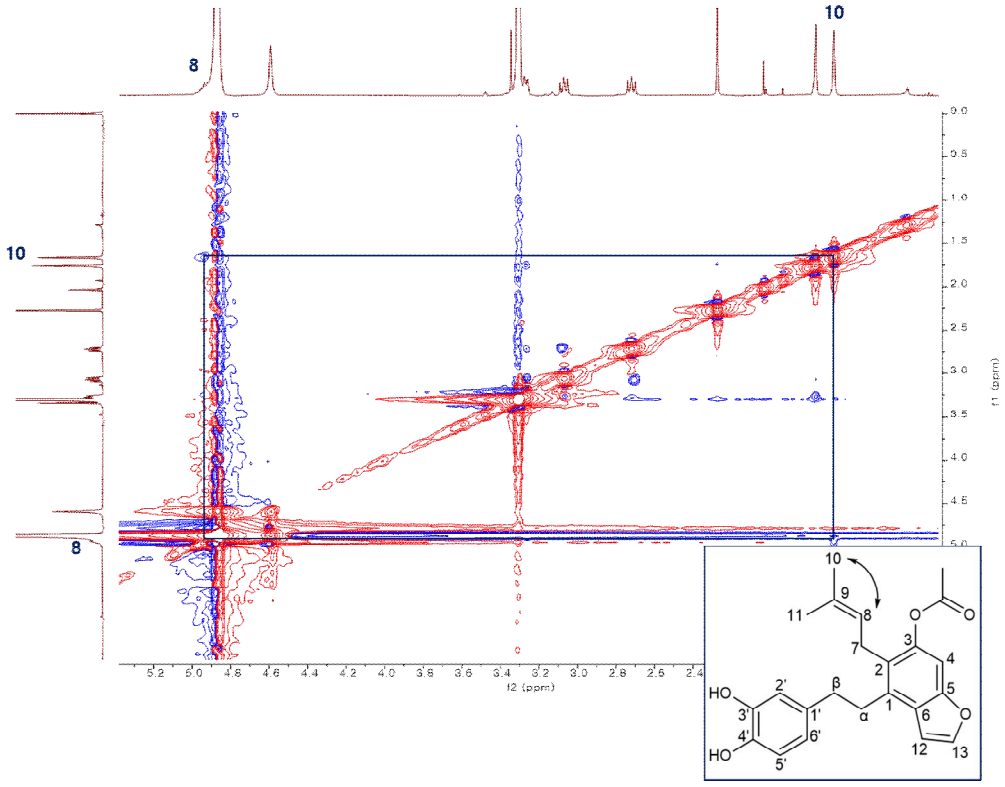


Figure 69. NOESY spectrum of compound **11** in MeOH−d_4

3.1.12. 화합물 **12**

노란색 무정형 고체 형태를 가지는 화합물 **12**는 HRESIMS 측정으로 negative mode에서 *m/z* 355.1192 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{19}O_6$, 355.1182) 결과를 얻었고 그 분자식은 $C_{20}H_{20}O_6$이다. IR 스펙트럼에서 나타난 흡수띠 중에서 1637 cm^{-1}를 통해 3282, 2932, 1637, 1610, 1518, 1439, 1382, 1303, 1268, 1175, 1078 cm^{-1} 흡수띠 중에서 1637 cm^{-1} 흡수띠를 통해 benzene 고리의 도입으로 인한 콘쥬게이션 효과로 감소된 진동수인 carbonyl group의 존재를 유추할 수 있었다. 또한 UV spectrum에서 202, 293 nm 극댓값을 확인하여서 flavonoid 계열 화합물임을 예상할 수 있다. 화합물 **12**는 8-prenylnarigenin trans-alcohol로 불리며, 인간 장 상피암 세포 Caco-2의 단층과 인간 간세포에서 8-prenylnarigenin이 *in vitro* 실험으로 얻어지는 hydroxylation된 대사 산물 (8-Prenylnaringenin trans-alcohol)로 알려져 있으며, 참고 문헌의 ^1H 와 ^{13}C NMR data를 토대로 화합물 12의 화학구조를 확인할 수 있었으나(Nikolic et al., 2006; Zierau et al. 2004), 화합물 **12**는 처음으로 천연에서 새롭게 발견된 화합물이다.

^1H NMR spectrum를 분석하여서 δ_H 7.33 (2H, dd, J = 8.5, 2.1 Hz, H-2', H-6'), 6.82 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', H-5') 수소는 1,4-disubstituted benzene 위에 존재하는 것을 알 수 있었으며, δ_H 5.93 (1H, s, H-6) 하나의 수소는 또 다른 aromatic ring (A ring)에 할당되어 있다는 것을 유추하였으며, 한 쌍의 prenyl moiety δ_H 5.44 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-12), 3.86 (2H, s, H-14), 3.24 (1H, dd, J = 7.5, 3.2 Hz, H-11), 1.77 (3H, s, H-15) proton signal을 확인하였다. 또한 HSQC spectrum을 통해서 δ_H 3.08 (1H, dd, J = 17.1, 12.9 Hz, H-3) 와 δ_H 2.70 (1H, dd, J = 17.1, 3.0 Hz, H-3)은 δ_C 43.2 (C-3)에 연결된 methylene임을 알 수 있었으며, δ_H 5.32 (1H, dd, J =

12.9, 2.9 Hz, H-2)과의 proton coupling constant를 비교하여서 이 화합물이 flavonol 구조임을 확인하였다. HMBC spectrum에서 δ_H 3.24 (H-11)가 δ_C 165.3 (C-7), δ_C 160.9 (C-9)와 상관관계가 있는 것을 알 수 있었고, δ_H 5.32 (H-2)/δ_C 160.9 (C-9)의 HMBC (optimized at long range J = 2 Hz) 상관관계로 prenyl group의 위치를 특정하였다. Prenyl group의 δ_H 3.86 (2H, s, H-14) 수소에는 hydroxyl group이 결합되어 있는 형태로, NOESY spectrum에서의 δ_H 5.42 (H-12)/δ_H 3.86 (H-14) 상관관계를 통해서 E configuration로 화합물 **12**의 평면구조를 결정하였다. Flavanone의 acetophenone moiety는 270-290 nm (maximum) 부근에서 $\pi \rightarrow \pi^*$ 전이와 약 320-330 nm (inflection)에서 $n \rightarrow \pi^*$ 전이를 할당하며, 2S configuration일 경우 $\pi \rightarrow \pi^*$ 흡수띠는 negative Cotton effect, $n \rightarrow \pi^*$ 흡수띠는 positive Cotton effect를 나타낸다(Slade et al., 2005). ECD spectrum의 측정으로 187, 290 nm에서 negative Cotton effect, 217, 315 nm에서 positive Cotton effect를 확인하였으며, C-2의 위치는 calculated ECD spectrum (2*R*, 2*S*)과 비교하여, 절대구조 2*S*로 규명할 수 있었다. 이상의 모든 결과들을 종합하여서 화합물 **12**를 ((2*S*)-5,7-dihydroxy-8-((E)-4-hydroxy-3-methylbut-1-en-1-yl)-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one 로 최종 결정하였으며, 이를 8-prenylnaringenin trans-alcohol 로 명명하였다.

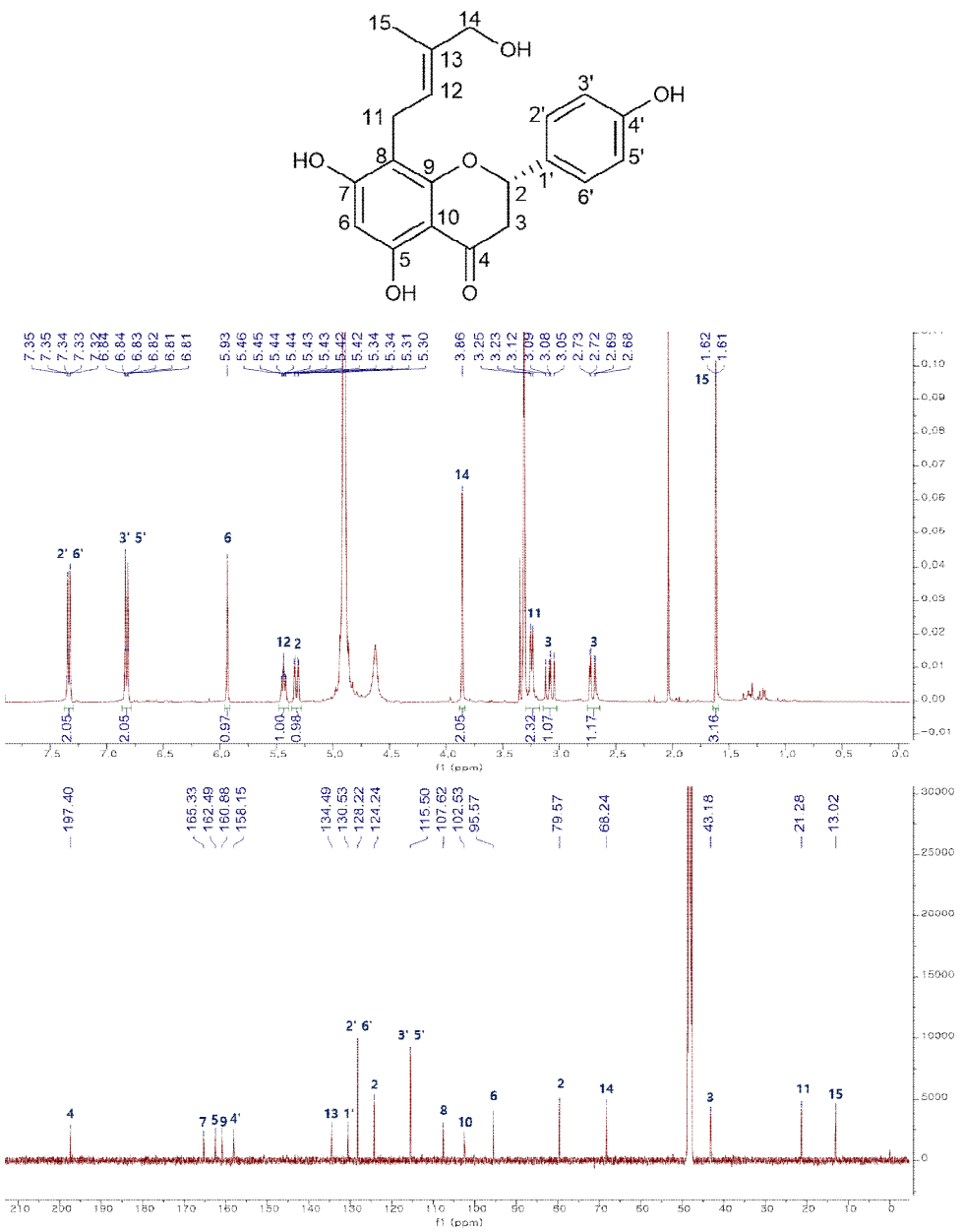


Figure 70. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **12** (recorded at 400/125 MHz, MeOH−d_4)

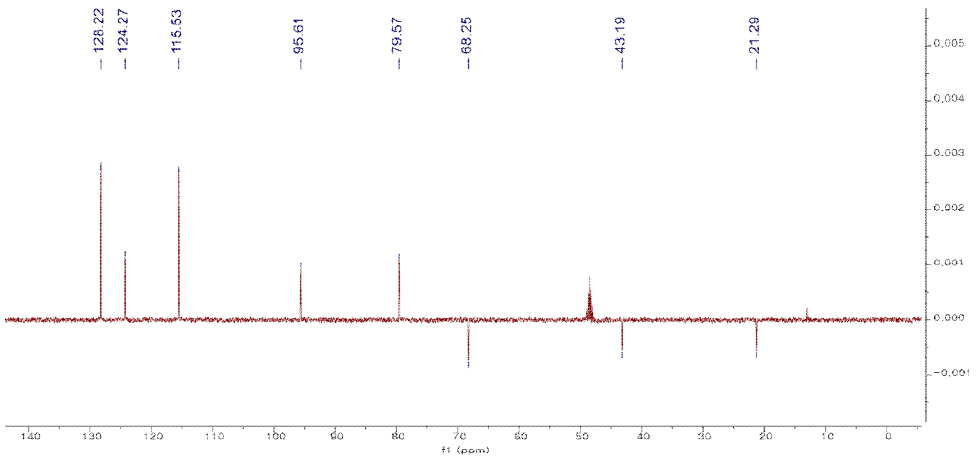


Figure 71. DEPT−135 spectrum of compound **12** (recorded at 100 MHz, MeOH−d_4)

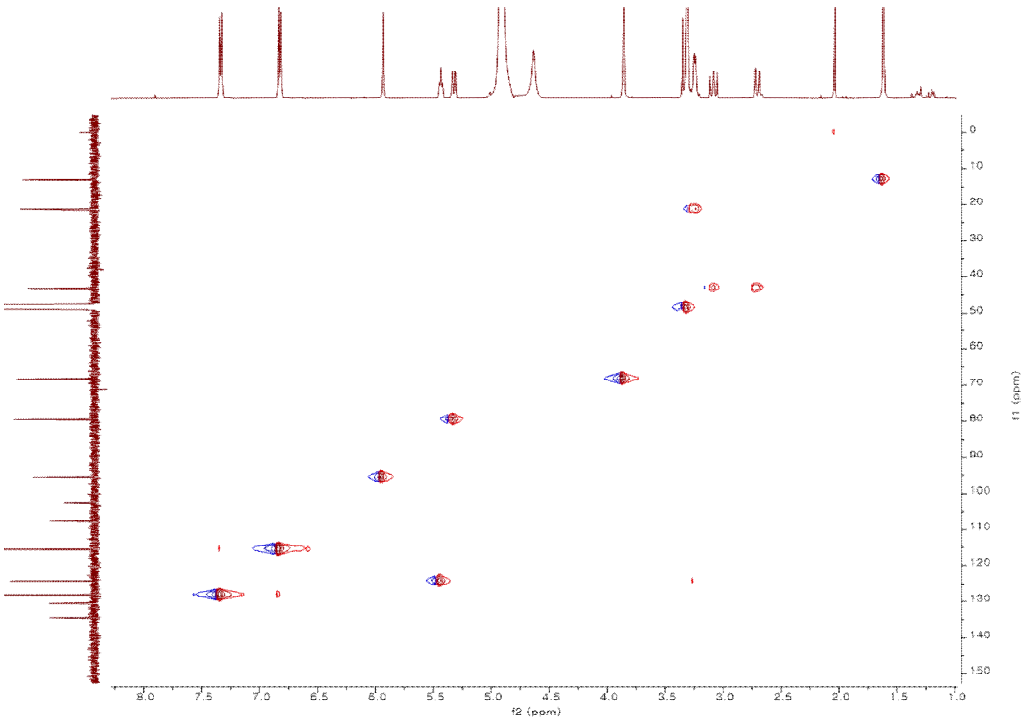


Figure 72. HSQC spectrum of compound **12** in MeOH−d_4

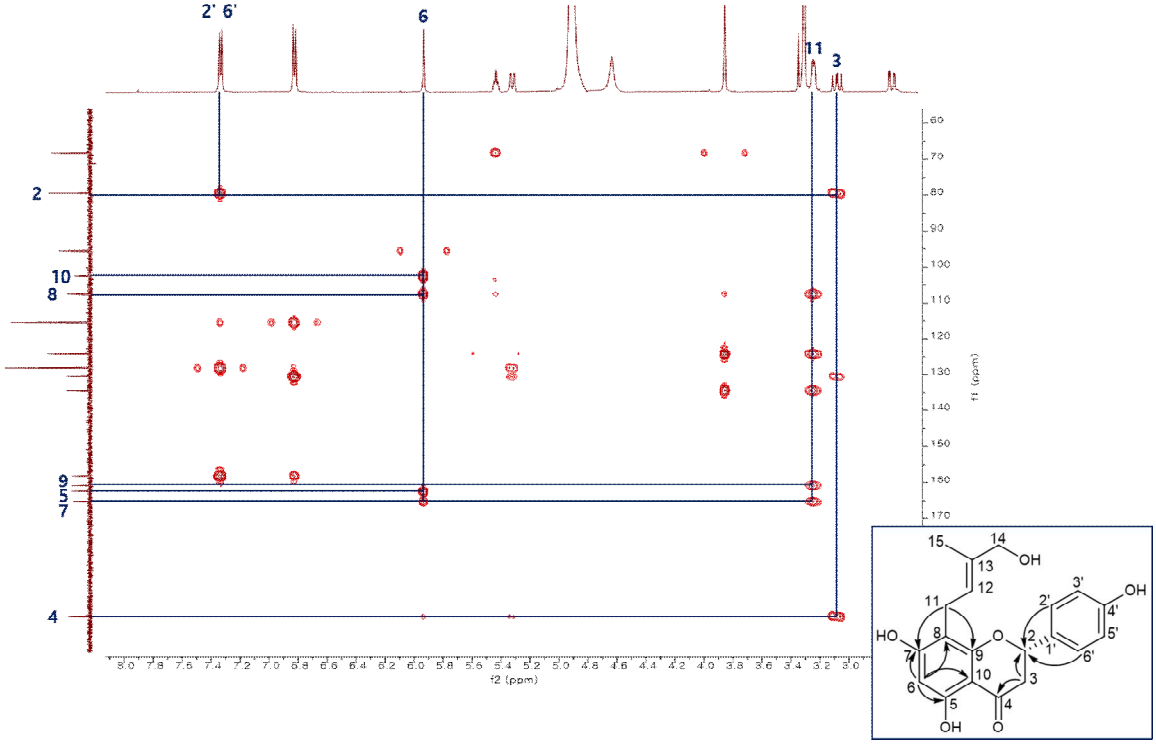


Figure 73. Key HMBC correlations of compound **12** in MeOH−d_4

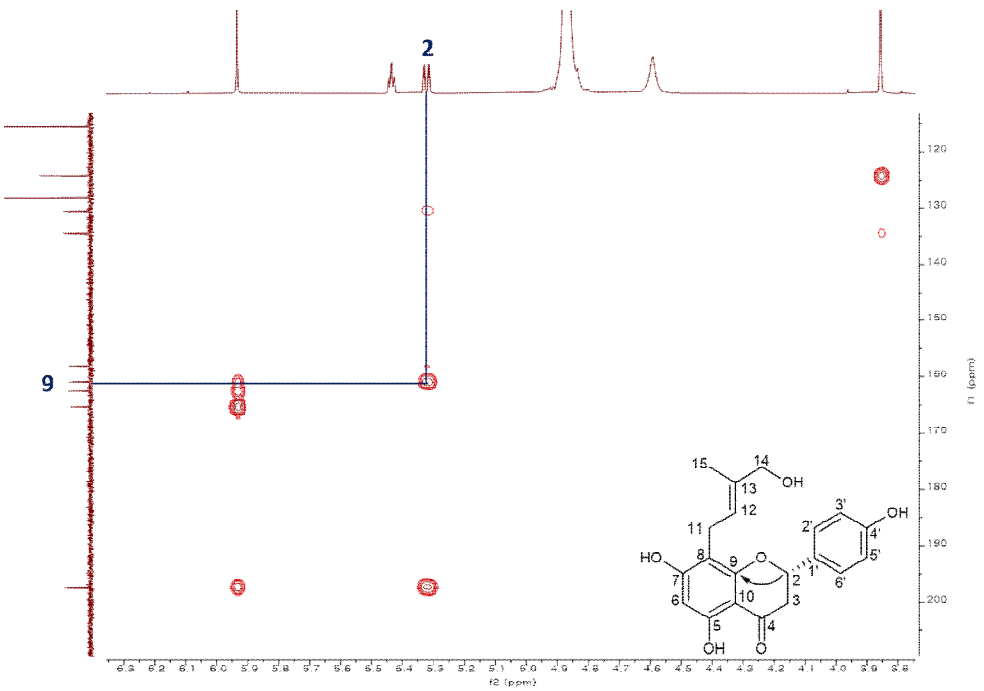


Figure 74. Key HMBC correlations of compound **12** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz)

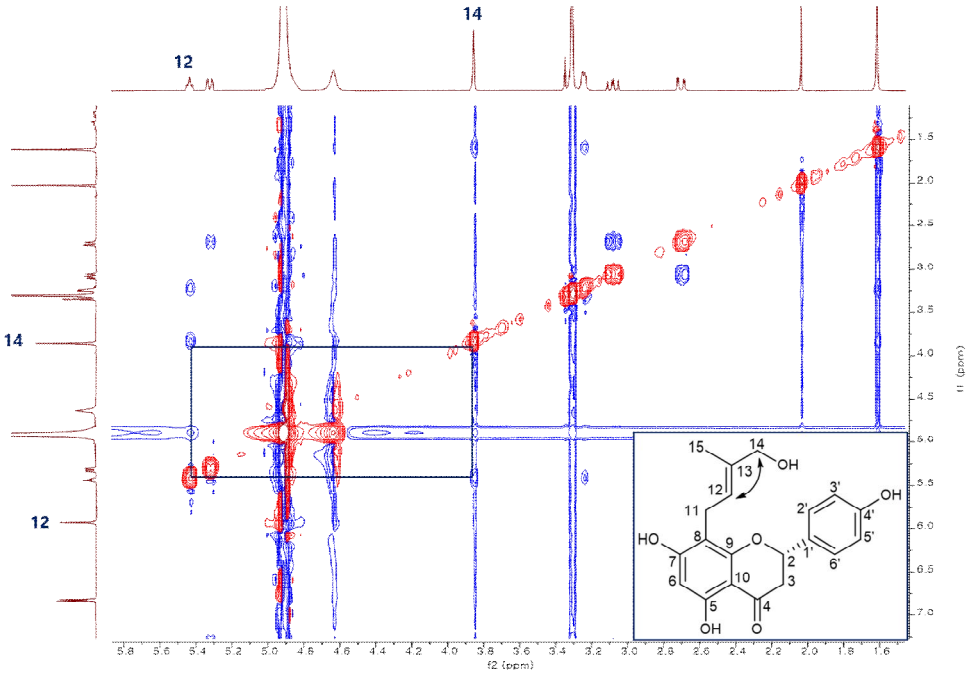


Figure 75. NOESY spectrum of compound **12** in MeOH−d_4

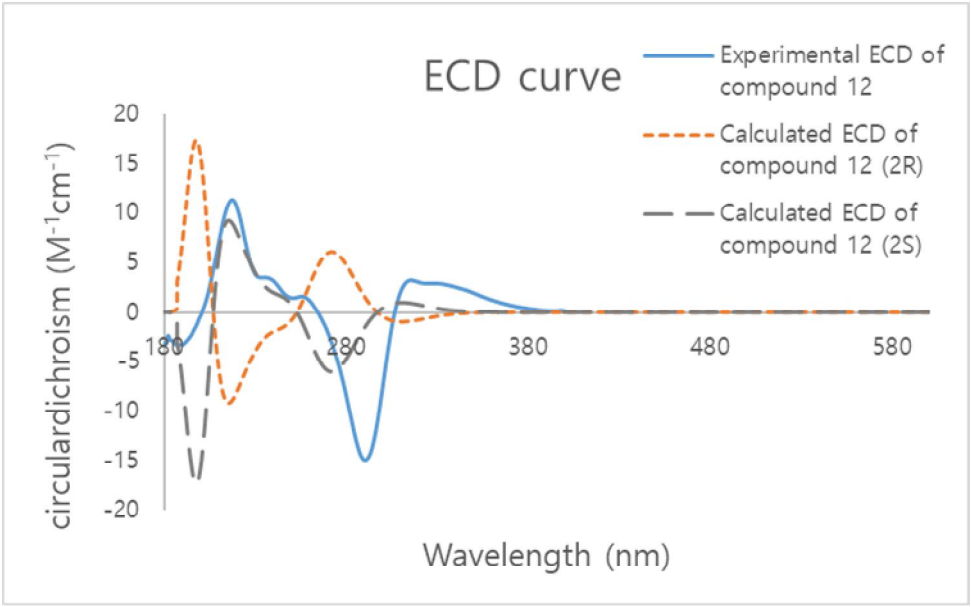


Figure 76. Calculated and experimental ECD spectra of compound **12**

3.1.13. 화합물 **13**

화합물 **13**은 노란색 무정형 고체 형태로, HRESIMS를 통하여 negative mode에서 HRESIMS: *m/z* 301.0337 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{15}H_9O_7$, 301.0348) 결과를 얻었고, 분자식은 $C_{15}H_{10}O_7$이다. ^1H NMR을 분석으로 δ_H 7.64 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), δ_H 7.54 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6'), δ_H 6.79 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5') proton signal의 coupling constant 값을 통해 proton이 1,3,4-trisubstituted benzene (flavonoid-B ring) 위에 존재하는 것을 알 수 있었으며, δ_H 6.29 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8)와 6.08 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6) 수소는 또 다른 aromatic ring (flavonoid-A ring)의 *meta* 위치에 서로 존재하는 것으로 추정하였다. 13 C NMR을 통해 총 7개의 oxygenated olefinic carbon이 있는 것을 확인하였으며, δ_H 7.64 (H-2'), 7.54 (H-6')/δ_C 147.3 (C-2) HMBC 상관관계를 통해서 flavonoid임을 알 수 있었으며, δ_H 7.54 (H-6')/δ_C 146.5 (C-4'), δ_H 6.79 (H-5')/δ_C 144.7 (C-3') HMBC 상관관계와 δ_C 135.7 (C-3) 탄소의 존재로, 각각의 산소와 연결된 탄소의 위치를 확인하고 flavonol임을 알 수 있었다. UV spectrum에서 204, 255, 372 nm에서 나타난 극댓값을 문헌과 비교하여 flavonol 구조임을 확인하였으며(Tasnuva et al., 2019), ^1H 와 ^{13}C NMR data를 비교하여서 화합물 **13**을 quercetin으로 동정하였다(Huang et al., 2017).

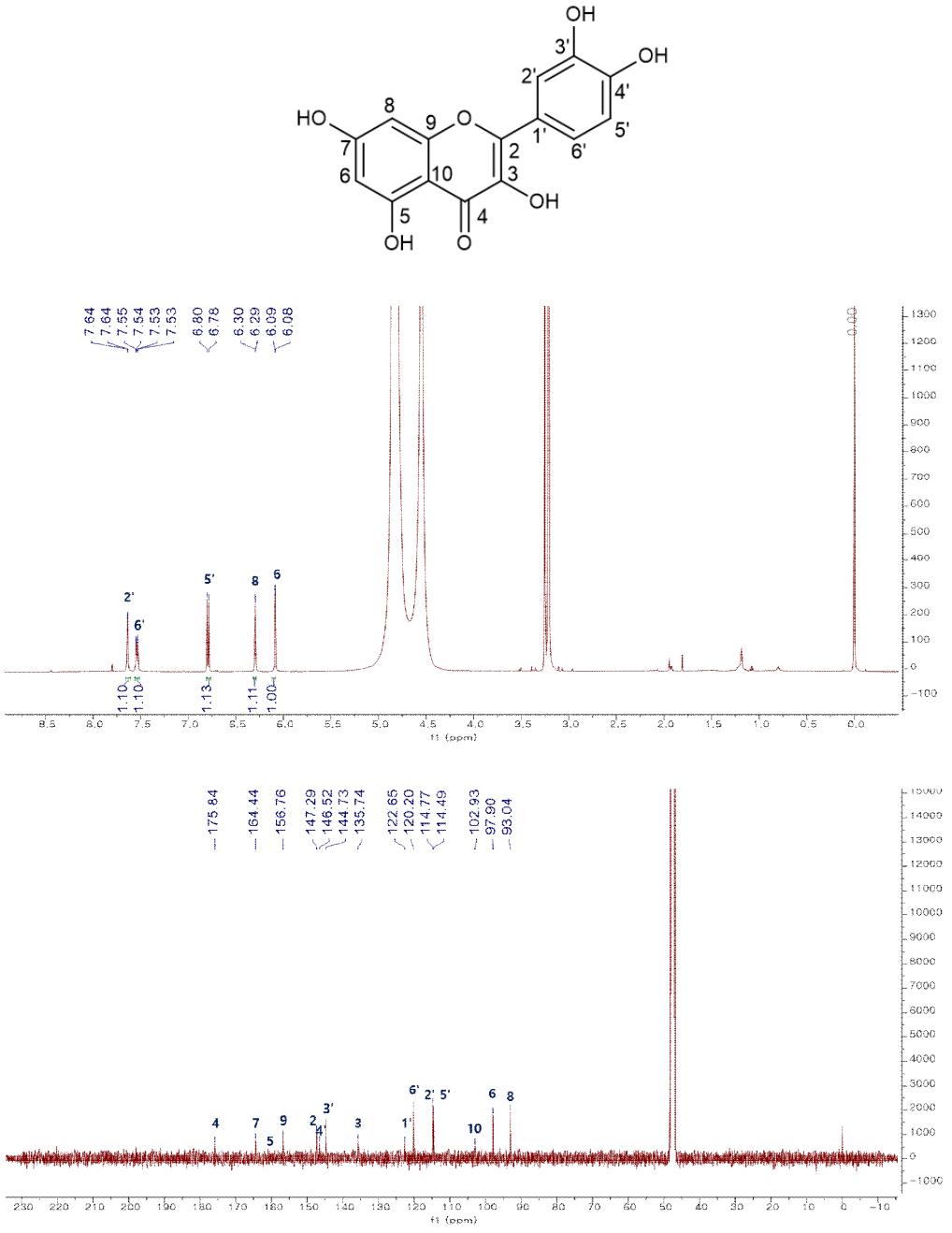


Figure 77. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **13** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

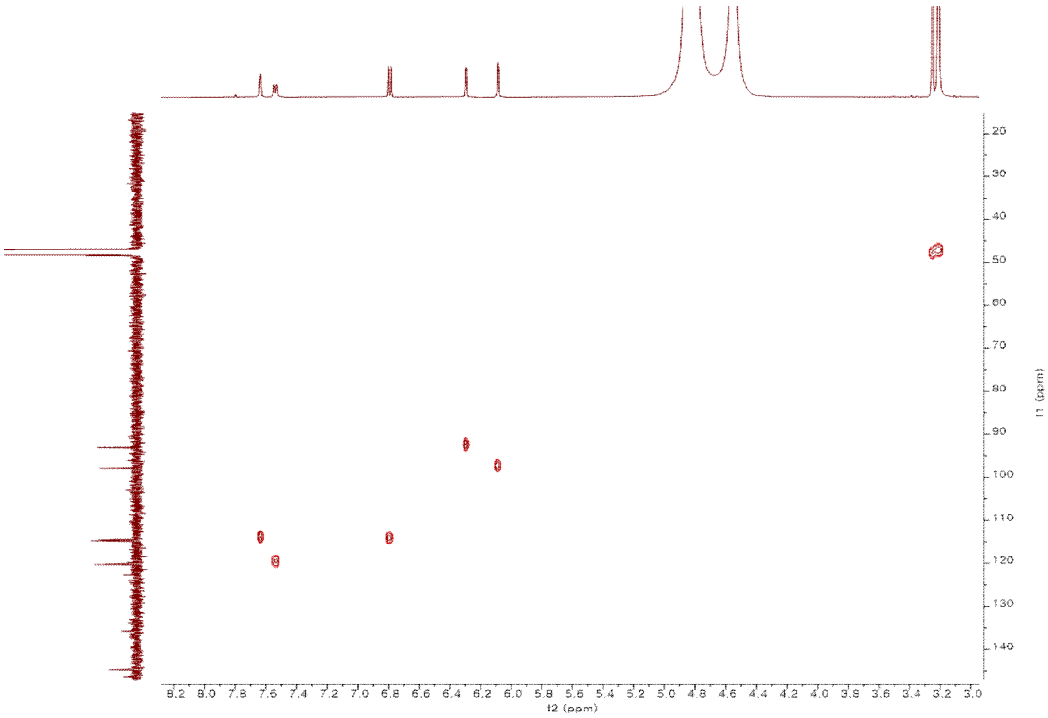


Figure 78. HSQC spectrum of compound **13** in MeOH−d_4

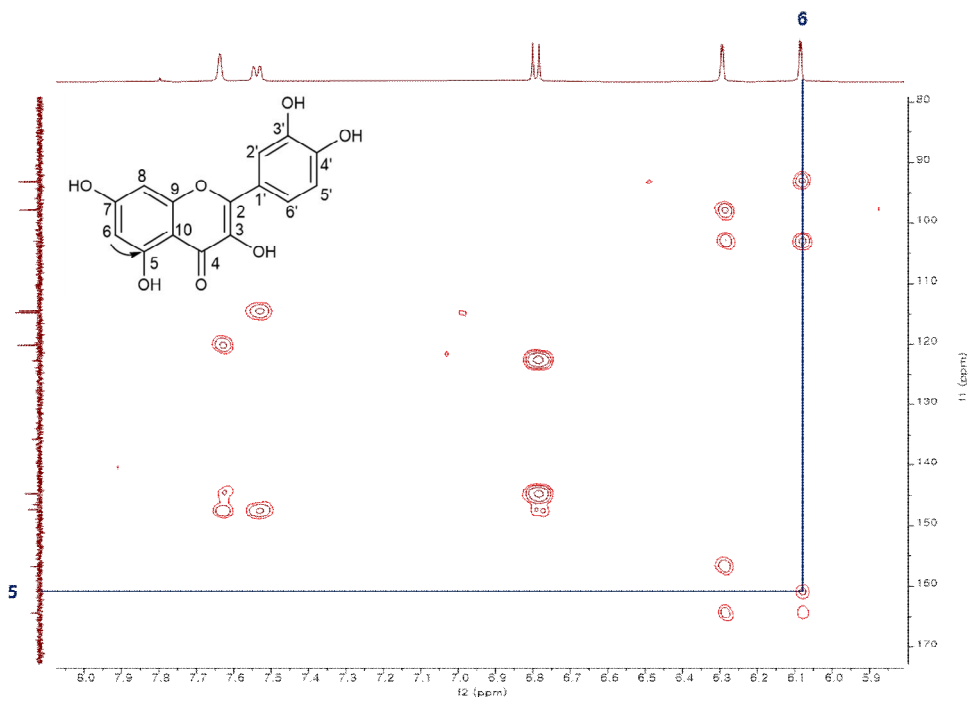


Figure 79. Key HMBC correlations of compound **13** in MeOH−d_4

3.1.14. 화합물 **14**

화합물 **14**는 노란색 무정형 분말 형태로, HRESIMS negative mode 측정으로 HRESIMS *m/z* 463.0879 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{21}H_{19}O_{12}$, 463.0877) 값을 얻었고, 분자식은 $C_{21}H_{20}O_{12}$이다. UV spectrum에서 205, 258, 357 nm에서 나타난 극댓값으로 flavonol 구조임을 예상하였으며, 화합물 **13**의 ^1H 와 ^{13}C NMR data를 비교하였을 때, 당을 제외한 flavonoid moiety의 값은 유사하게 나타났다. ^1H NMR을 분석으로 δ_H 7.71 (1H, d, J = 2.1 Hz, H−2'), 7.59 (1H, dd, J = 8.4, 1.9 Hz, H−6'), δ_H 6.87 (1H, d, J = 8.5 Hz, H−5') proton signal의 coupling constant 값을 통해 proton이 1,3,4−trisubstituted benzene (flavonoid−B ring) 위에 존재하는 것을 알 수 있었으며, δ_H 6.39 (1H, s, H−8) 와 6.20 (1H, s, H−6) 수소는 또 다른 aromatic ring (flavonoid−A ring)의 *meta* 위치에 있음을 확인하고, anomeric proton δ_H 5.25 (1H, d, J = 7.5 Hz, H−1'')를 통하여 당의 존재를 예상할 수 있었다. δ_H 5.25 (H−1'')/δ_C 134.8 (C−3) HMBC 상관관계를 통해 당이 C−3 위치에 결합되어 있음을 알 수 있었으며, 문헌의 ^1H 와 ^{13}C NMR data를 비교하여서 isoquercetin으로 동정하였다 (Nishina et al., 2017; Tajuddeen et al., 2021).

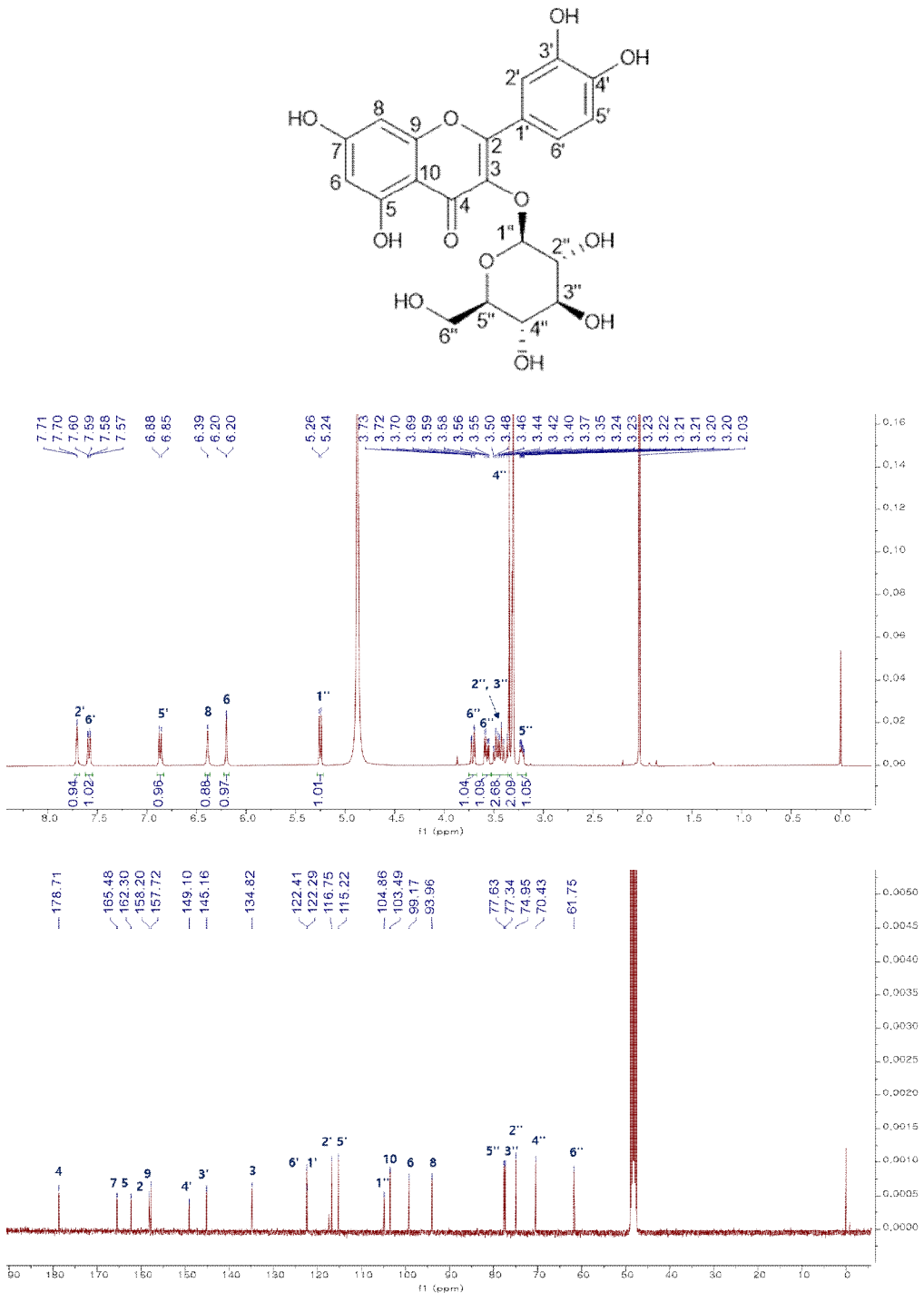


Figure 80. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **14** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

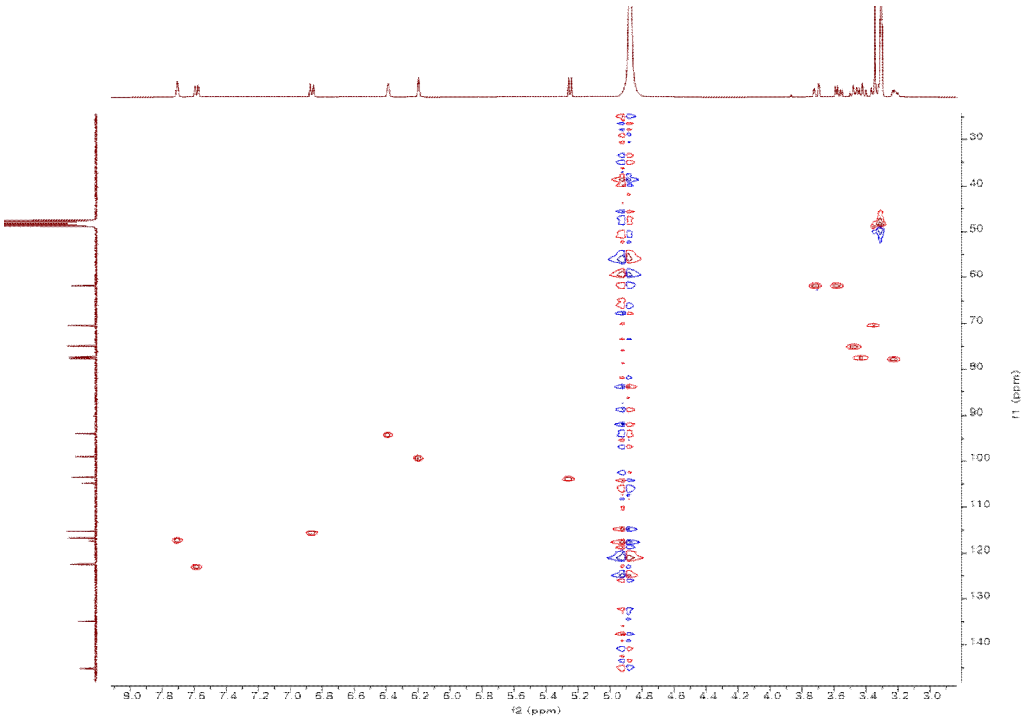


Figure 81. HSQC spectrum of compound **14** in MeOH−d_4

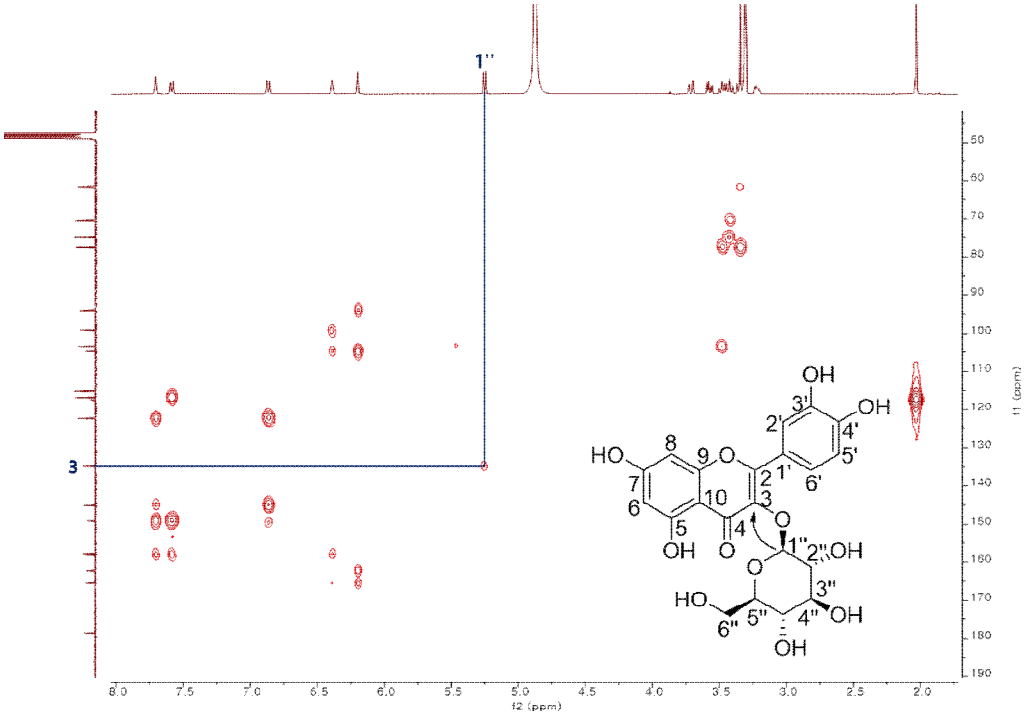


Figure 82. Key HMBC correlations of compound **14** in MeOH−d_4

3.1.15. 화합물 **15**

화합물 **15**는 노란색 무정형 분말 물질로, HRESIMS를 통하여 positive mode에서 *m/z* 301.0699 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{16}H_{13}O_6$, 301.0707) 결과를 얻었고, 분자식은 $C_{16}H_{12}O_6$이다. ^1H NMR에서 나타난 δ_H 6.84 (1H, s, H-3)는 C-2와 C-3의 이중결합으로 나타난 olefinic proton이며, δ_H 6.45 (1H, s, H-8) 와 6.14 (1H, s, H-6) 두 수소는 aromatic ring (flavonoid-A ring)의 *meta* 위치에 있으며, δ_H 3.88 (3H, s, H-3'OCH_3) methoxy group을 확인했으며, methoxy 수소는 ^{13}C NMR spectrum과 HMBC spectrum을 통해 δ_C 55.8 (C-3'OCH_3)에 결합되어 있는 δ_H 3.88 (H-3'OCH_3)는 B ring 위에 있는 δ_C 148.0 (C-3') 과의 상관관계를 통해 methoxy 위치를 확정하였다. 화합물 **15**를 문헌과 비교하여서 chrysoeriol로 동정하였다(Xu et al., 2018).

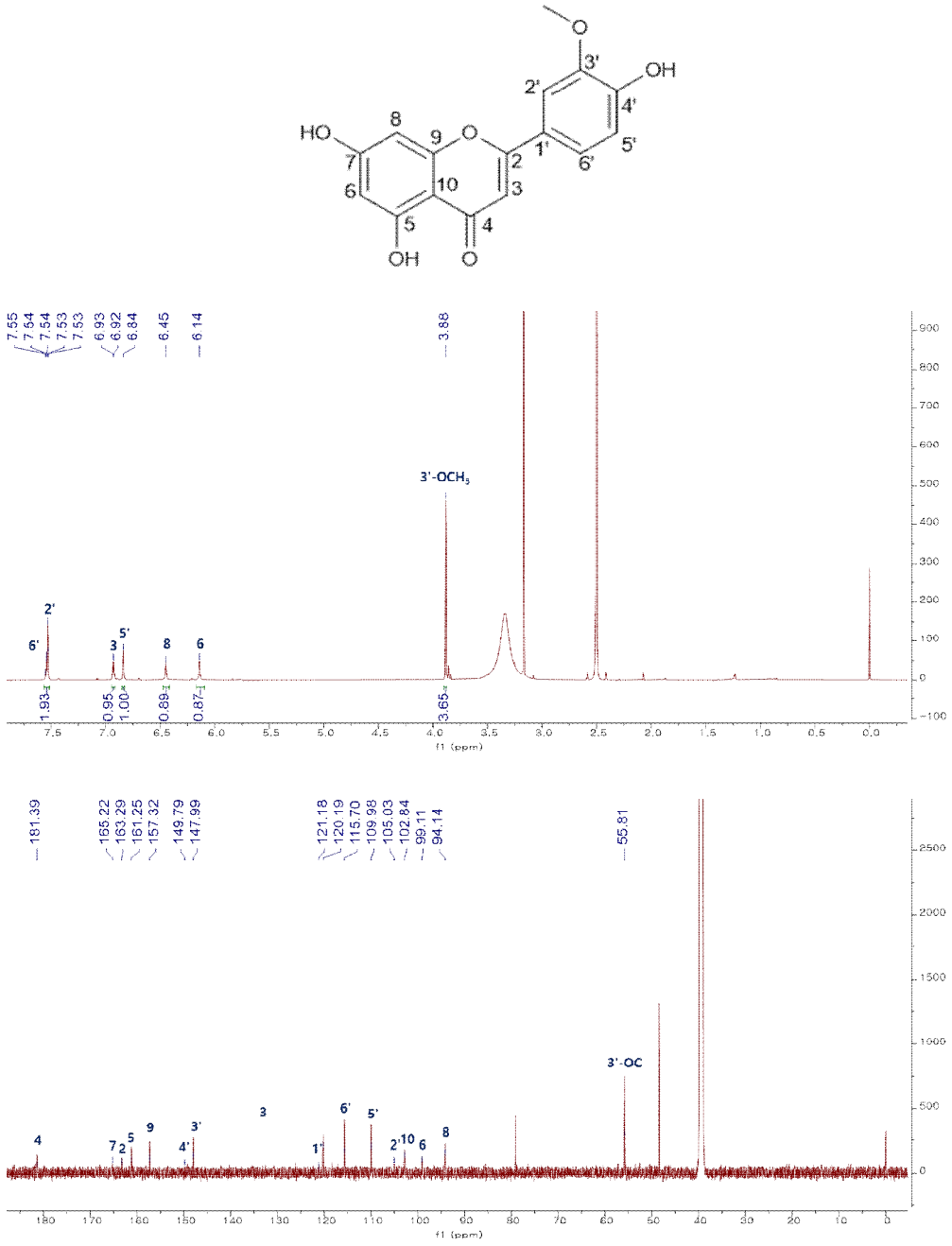


Figure 83. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **15** (recorded at 800/200 MHz, DMSO−d_6)

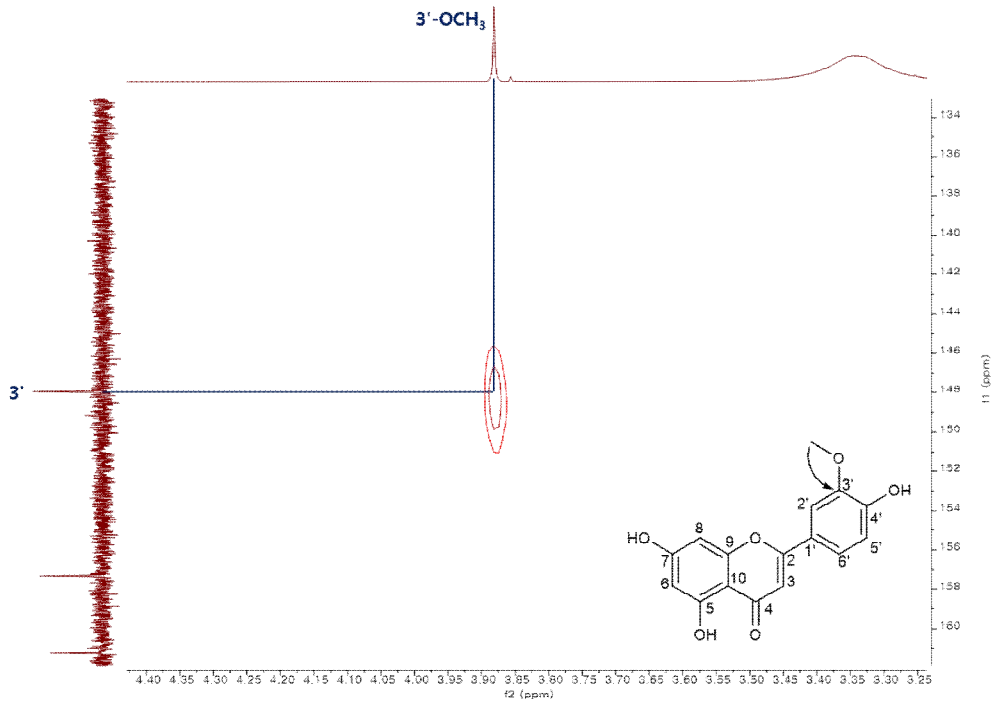


Figure 84. Key HMBC correlations of compound **15** in DMSO−d_6

3.1.16. 화합물 **16**

화합물 **16**은 하얀색 무정형 분말이며, HRESIMS negative mode에서 측정한 *m/z* 339.1235 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{19}O_5$, 339.1232) 결과로 분자식은 $C_{20}H_{20}O_5$ 이다. ^{1}H NMR spectrum에서 4개의 aromatic proton signals인 δ_H 7.31 (2H, d, J = 8.6 Hz, H−2', H−6'), 6.81 (2H, d, J = 8.6 Hz, H−3', H−5')는 B ring의 *para* disubstituted benzene 위에 있으며, δ_H 6.24 (1H, s, H−4)의 proton signal은 또 다른 방향족 A ring으로 할당하였다. 그리고 δ_H 5.31 (1H, dd, J = 13.0, 3.0 Hz, H−2), 3.10 (1H, dd, J = 17.1, 13.1 Hz, H−3), 2.68 (1H, dd, J = 17.1, 2.8 Hz, H−3) proton signal로 C−2와 C−3 간의 이중결합 부재로 화합물 **16**이 flavanone 골격임을 추측할 수 있었다. δ_H 5.19 (1H, t, J = 7.2 Hz, H−12), 3.20 (2H, d, J = 7.1 Hz, H−11), 1.75 (3H, s, H−15), 1.66 (3H, s, H−14) proton signal은 prenyl moiety를 구성하며, HMBC spectrum에서 δ_H 3.20 (H−11)는 δ_C 166.1 (C−9)와 162.6 (C−5)와의 상관관계를 통해 isopentenyl moiety는 C−8에 위치하는 것을 알 수 있었다. ECD spectrum 측정을 통하여 절대구조를 결정할 수 있다. ECD spectrum 측정을 통하여 219, 293 nm 주변에서 positive Cotton effect가, 291 nm 부근에서는 negative Cotton effect가 나타나는 것을 확인하여서 화합물 **16**의 입체구조는 2S로 결정하였으며, UV 스펙트럼의 λ_{max} 값 202 (4.67), 230(*sh*) (4.33), 280 (3.95) nm를 문헌치와 비교하였을 때 동일한 패턴으로 보였다(Li et al. 2021; Martinez et al., 2014). 위의 모든 결과를 종합하여서 문헌과 비교하였을 때, 화합물 **16**을 8-prenylnaringenin/sophoraflavanone B로 동정하였다(Chadwick et al., 2004).

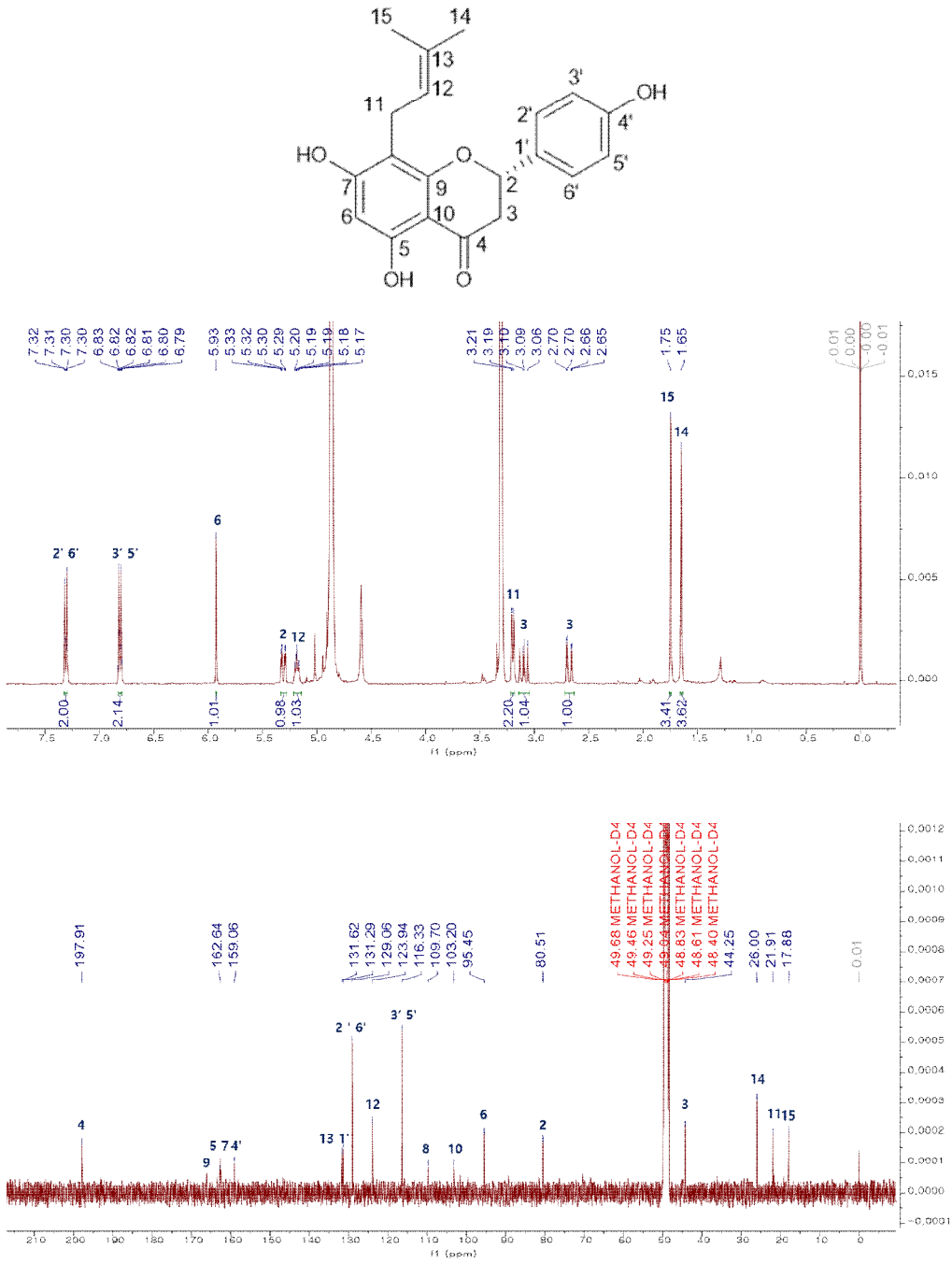


Figure 85. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **16** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

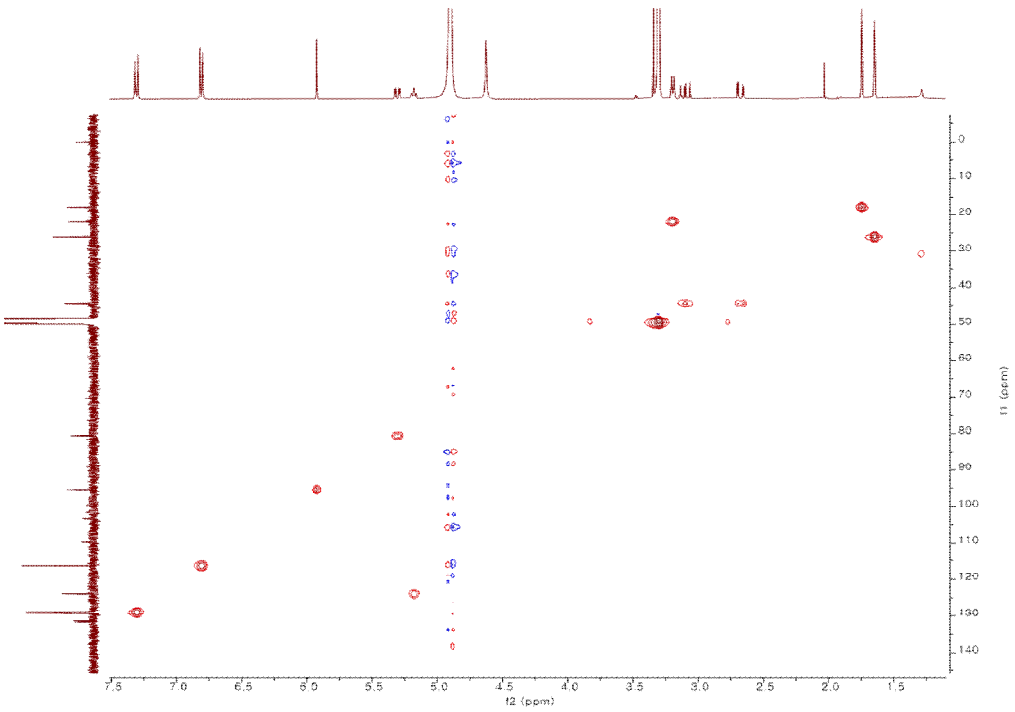


Figure 86. HSQC spectrum of compound **16** in MeOH−d_4

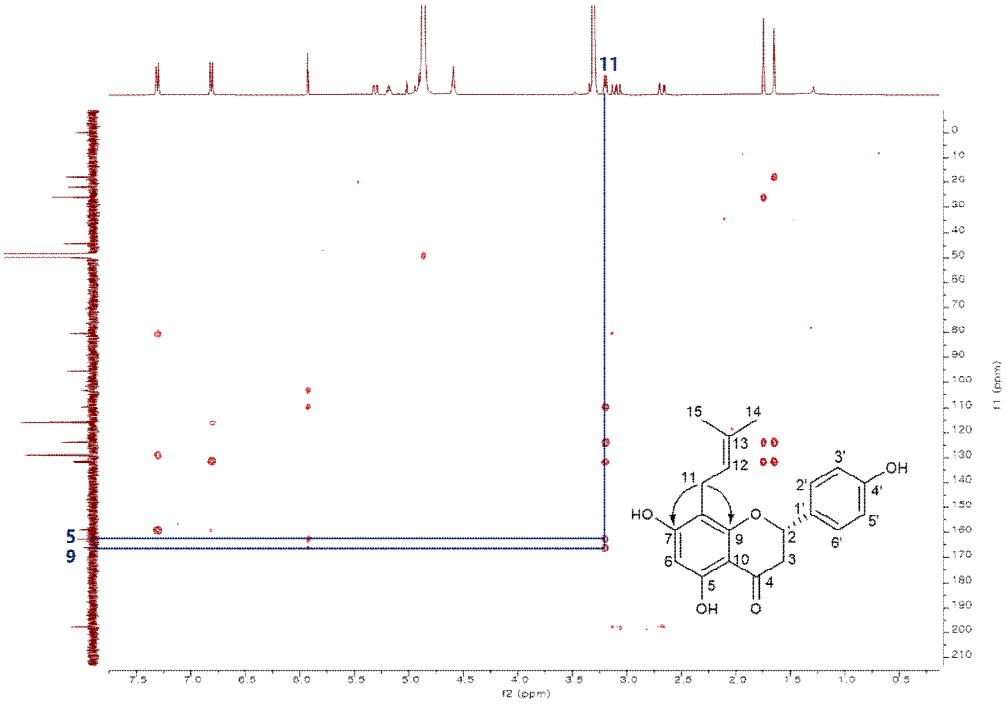


Figure 87. Key HMBC correlations of compound **16** in MeOH−d_4

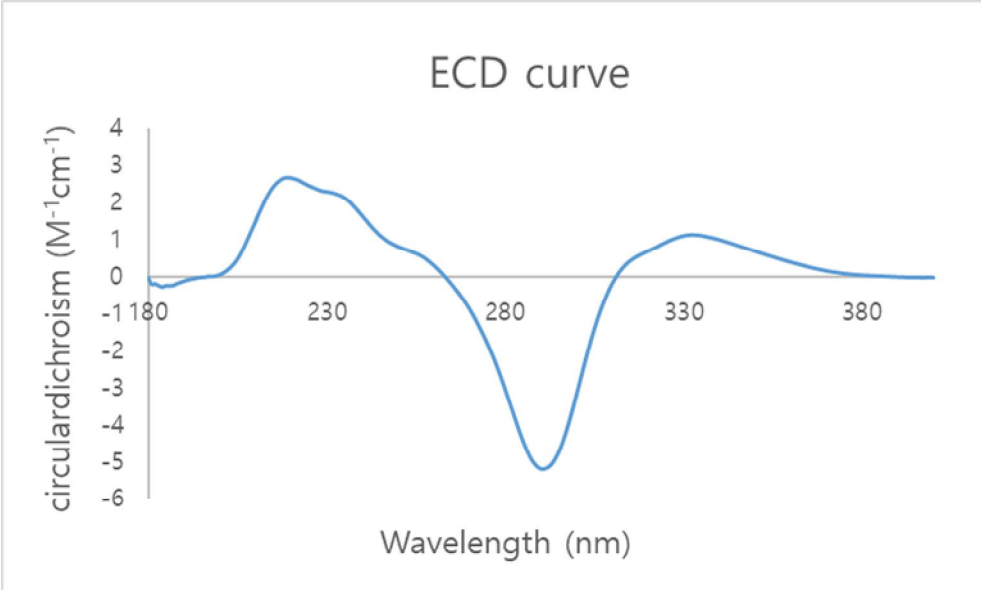


Figure 88. Experimental ECD spectrum of compound 16

3.1.17. 화합물 **17**

화합물 **17**은 노란색 무정형 고체 형태로 HRESIMS 측정을 통하여 *m/z* 353.1021 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{17}O_6$ 353.1025)의 값을 얻었으며 분자식은 $C_{20}H_{18}O_6$ 이다. UV λ_{max} 값은 201, 268 nm이다. ^{1}H NMR data 중에서 δ_H 7.36 (2H, m, H−2', H−6'), δ_H 6.89 (1H, d, J = 8.8 Hz, H−5') proton signal은 1,3,4−trisubstituted benzene인 flavonoid B ring 위에 있음을 알 수 있으며, δ_H 5.23 (1H, tt, J = 7.2, 1.3 Hz, H−12), 3.29 (overlapped, H−11), 1.78 (3H, d, J = 1.4 Hz, H−15), 1.66 (3H, d, J = 1.4 Hz, H−14) proton signal로 prenyl moiety의 존재를 확인하였다. 그리고 두 개의 δ_H 6.51 (1H, s, H−3), 6.46 (1H, s, H−8) 수소는 각각 flavonoid C, A ring 위에 있음을 예상하였다. ^{13}C NMR spectrum에 나타난 6개 oxygenated olefinic carbon의 위치는 δ_H 7.39 (H−3, H−5)/δ_C 159.9 (C−5), δ_H 6.51 (H−3)/δ_C 159.9 (C−5), δ_H 6.46 (H−8)/δ_C 163.7 (C−6), 157.2 (C−9)의 HMBC 상관관계(optimized at long range J = 2 Hz)로 확인하였으며 δ_C 183.9 (C−4)로 ketone을 포함하는 flavonoid라는 사실을 알 수 있었다. 위의 모든 결과를 토대로 문헌치와 비교하여 화합물 **17**을 6−C−prenyl luteolin로 동정하였다 (Li et al., 2014).

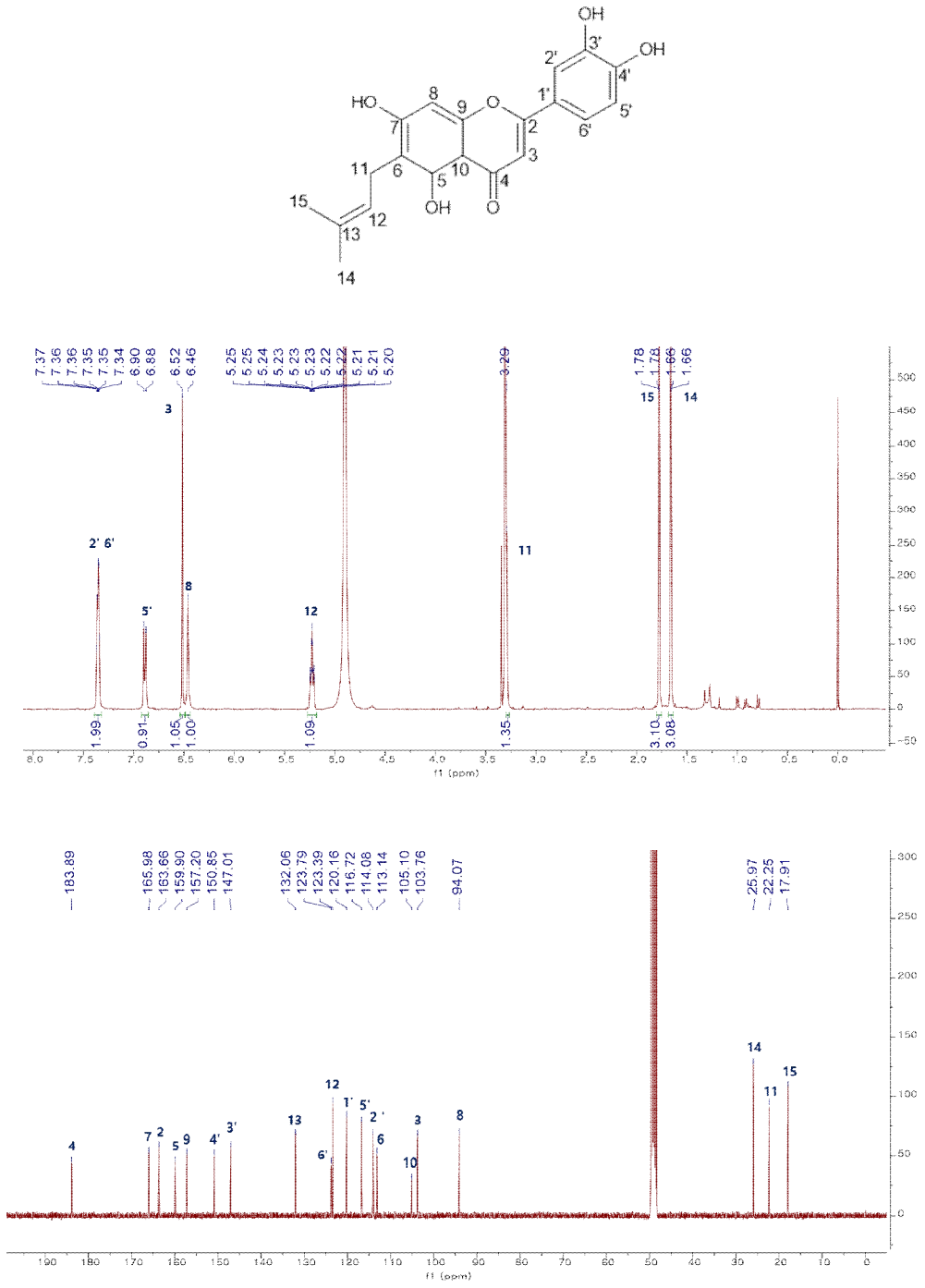


Figure 89. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **17** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

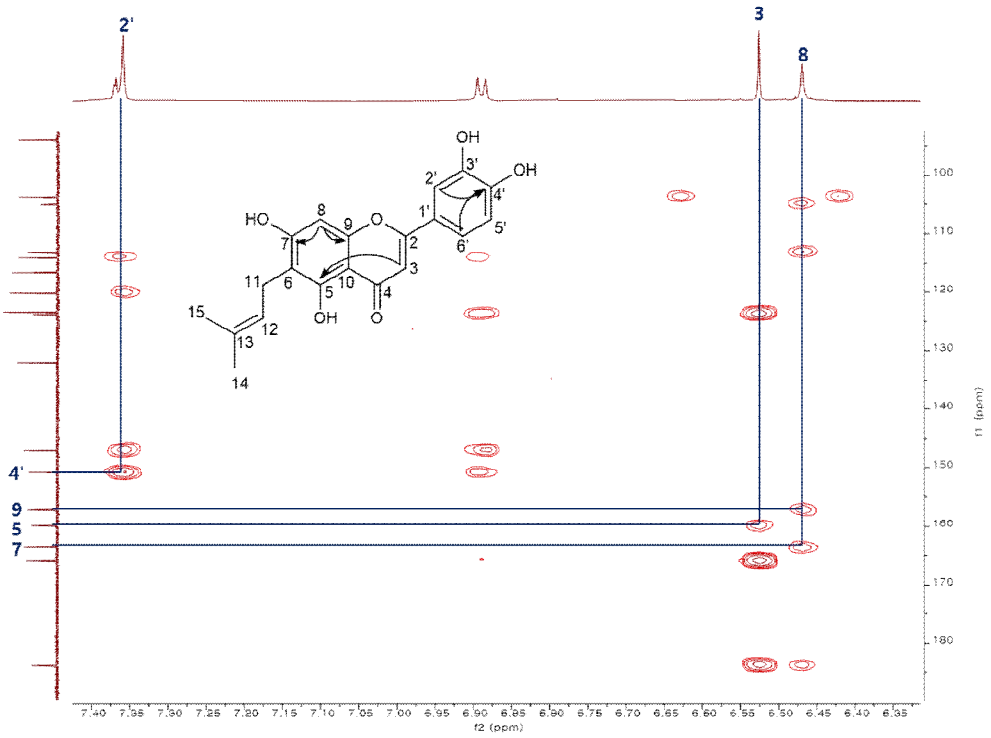


Figure 90. Key HMBC correlations of compound **17** in MeOH−d_4 (recorded at optimized HMBC spectrum−2 Hz)

3.1.18. 화합물 18

노란색 무정형 고체 특징을 가지는 화합물 **18**은 HRESIMS의 측정으로 HRESIMS *m/z* 339.1232 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{20}H_{19}O_5$, 339.1232)를 통해 분자식이 $C_{20}H_{18}O_5$ 라는 결과를 얻었다. UV spectrum에서 201, 274, 332 nm에서 극댓값을 확인하여서 flavonoid 화합물임을 예상할 수 있다. ^{1}H NMR data 중에서 δ_H 7.80 (2H, d, J = 8.8 Hz, H−2', H−6'), 6.91 (2H, d, J = 8.8 Hz, H−3', H−5') proton signal로 *para* disubstituted benzene과 δ_H 5.23 (1H, tt, J = 7.2, 1.3 Hz, H−12), 3.29 (overlapped, H−11), 1.78 (3H, s, H−15), 1.66 (3H, s, H−14) proton signal로 prenyl moiety의 존재를 확인하였다. 그리고 두 개의 δ_H 6.54 (1H, s, H−3), δ_H 6.45 (1H, s, H−8) 수소는 각각 flavonoid C, A ring 위에 있음을 예상하였다. 화합물 **18**은 화합물 **17**의 화학구조와 비교하였을 때, C−3' 위치에 hydroxy group이 결합된 차이가 있고, 위의 모든 결과를 종합하여 기존의 문헌과 비교하여 화합물 **18**을 6−prenylapigenin으로 동정하였다 (Abegaz et al., 1998).

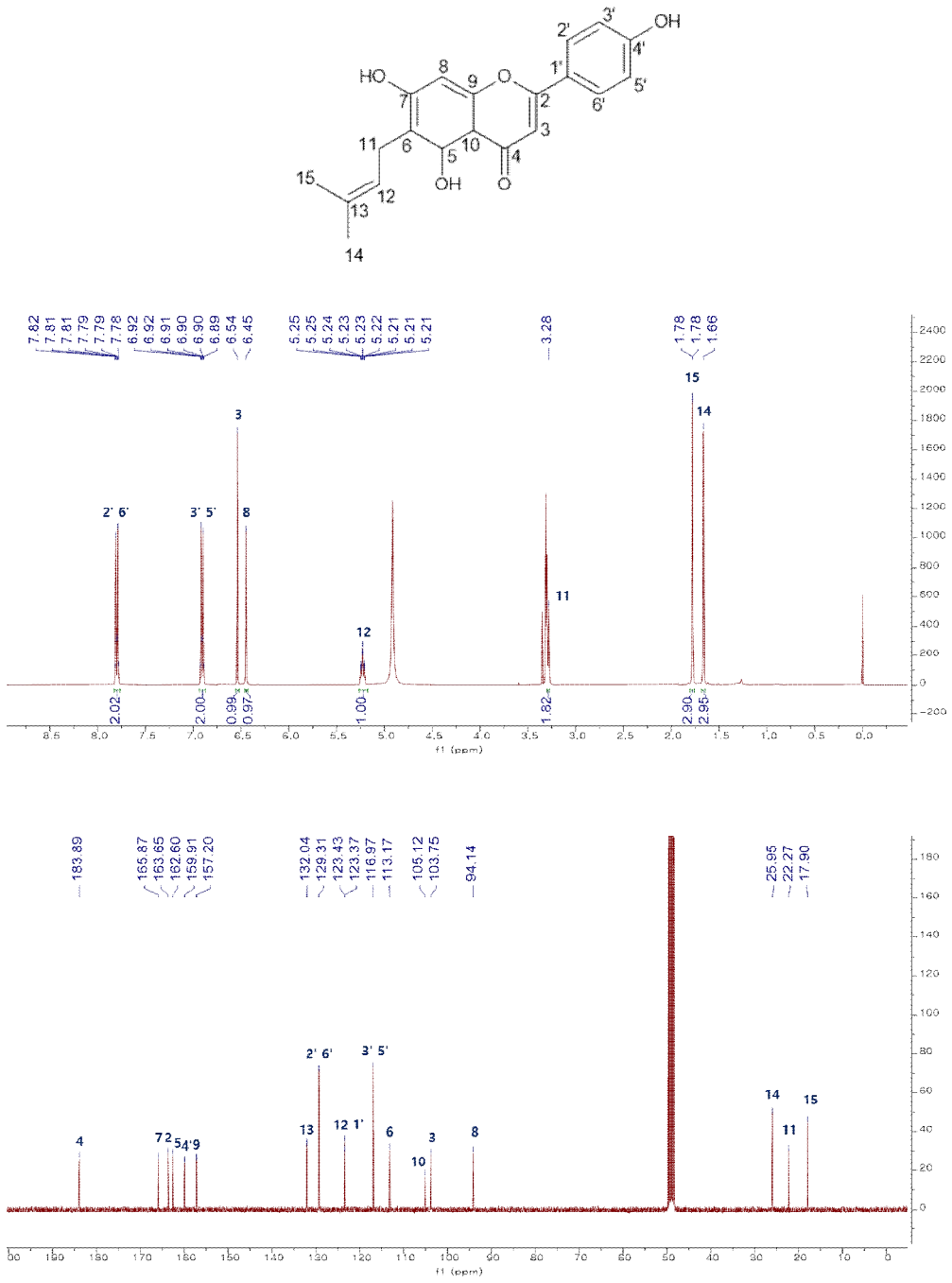


Figure 91. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **18** (recorded at 400/100 MHz, MeOH−d_4)

3.1.19. 화합물 **19**

화합물 **19**는 노란색 무정형 고체 성상으로 분리되었으며, HRESIMS *m/z* 315.1593 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{19}H_{23}O_4$, 315.1591) 값을 얻었고 분자식은 $C_{19}H_{22}O_4$ 이다. UV spectrum에서 203, 278, 310 nm 에서 극댓값을 확인하였다 화합물 **19**는 이전에 이미 천연에서 분리 보고된 화합물이지만, 이 구조에 대한 NMR data 문헌이 부족하여 기존의 문헌과 비교할 수 없었다. ^{1}H NMR spectrum에서 1,3,4-trisubstituted aromatic ring에 결합된 3개의 수소 δ_H 6.66 (1H, dd, J = 8.0, 2.1 Hz, H-5'), 6.61 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.48 (1H, dd, J = 8.1, 2.1 Hz, H-6') 와 1,2,3,5-tetra-substitution pattern ring의 *meta* 위치에 있는 δ_H 6.15 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-4), 6.13 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-6) 수소를 확인하였다. Prenyl moiety를 구성하는 δ_H 5.05 (1H, t, J = 6.4 Hz, H-8), 3.22 (2H, d, J = 6.5 Hz, H-7), 1.72 (3H, s, H-11), 1.65 (3H, s, H-10)와, methylene proton인 δ_H 2.68 (2H, m, H-α), 2.64 (2H, m, H-β) proton signal을 확인하였다. HMBC spectrum에서 나타난 δ_H 6.61 (H-2'), δ_H 6.48 (H-6')/δ_C 38.3 (C-β) 와 δ_H 6.13 (H-6')/δ_C 36.8 (C-α) 상관관계를 통해 두 개의 aromatic ring이 methylene으로 연결된 dihydrostilbene임을 알 수 있었다. δ_H 6.67 (H-4')/δ_C 146.1 (C-2') 와 δ_H 6.48 (H-6')/δ_C 144.3 (C-4'), δ_H 6.15 (H-4)/δ_C 157.1 (C-3), δ_C 156.6 (C-5) HMBC 상관관계로 δ_C 157.1 (C-4), 156.6 (C-5), 146.1 (C-3'), 144.3 (C-4') carbon signal은 oxygenated olefinic carbon의 위치를 확인하여서 dihydropiceatannol 유도체임을 알 수 있었다. δ_H 3.22 (2H, d, J = 6.5 Hz, H-7)는 δ_C 157.1 (C-4), 143.5 (C-1), 119.0 (C-2) 간의 HMBC 상관관계를 통해 prenyl group의 위치는 A ring의 C-2로 확정하였다. 이상의 결과를 토대로 화합물 **19**의 구조를

4-(3,5-dihydroxy-2-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenethyl) benzene-1,2-diol로 동정하였다.

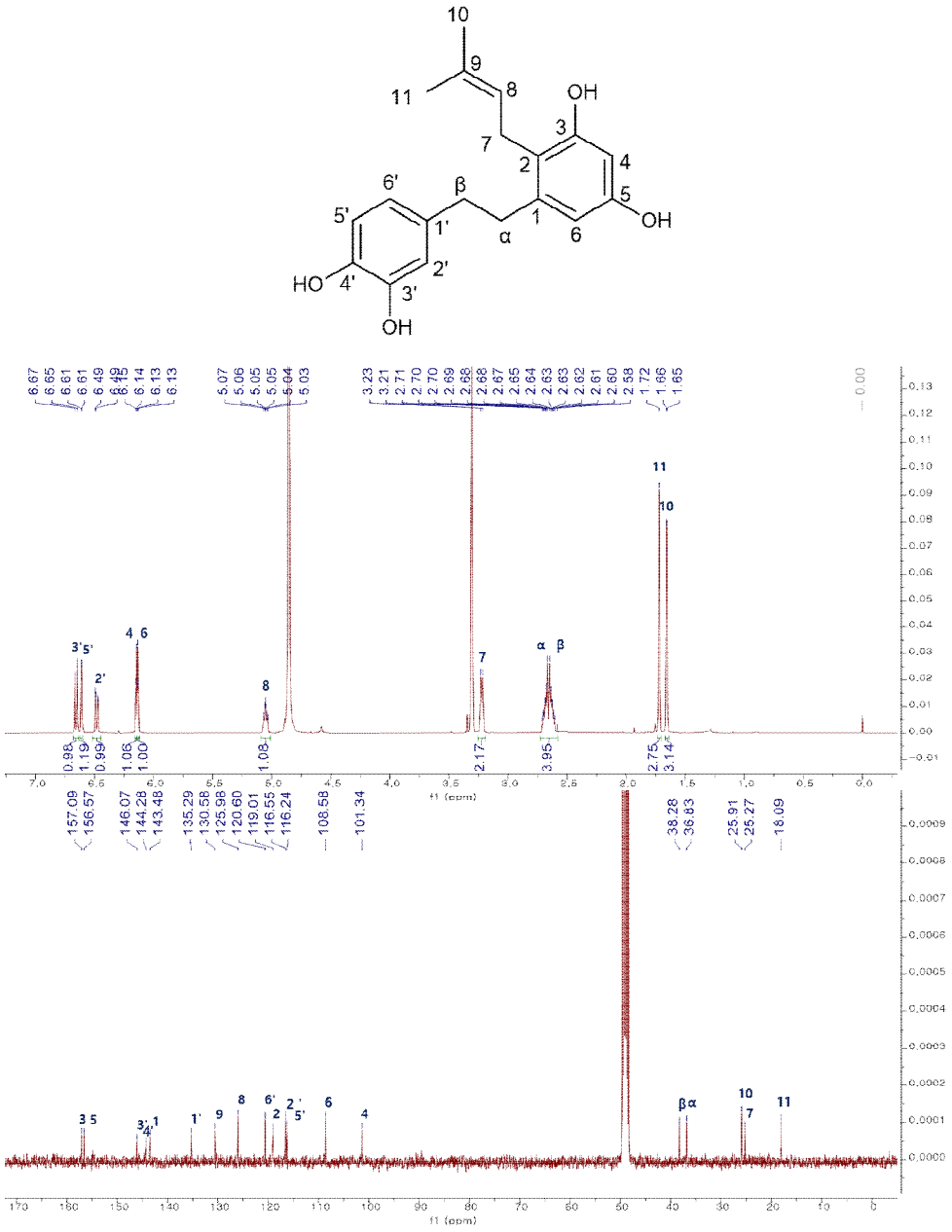


Figure 92. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **19** (recorded at 400/100 MHz, MeOH-d_4)

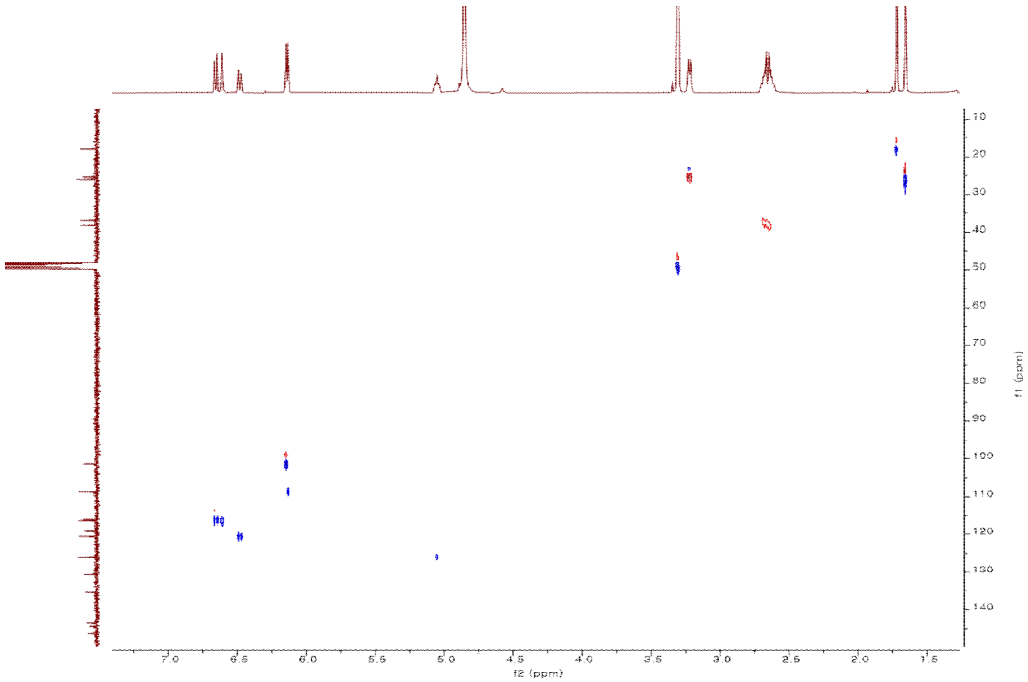


Figure 93. HSQC spectrum of compound **19** in MeOH−d_4

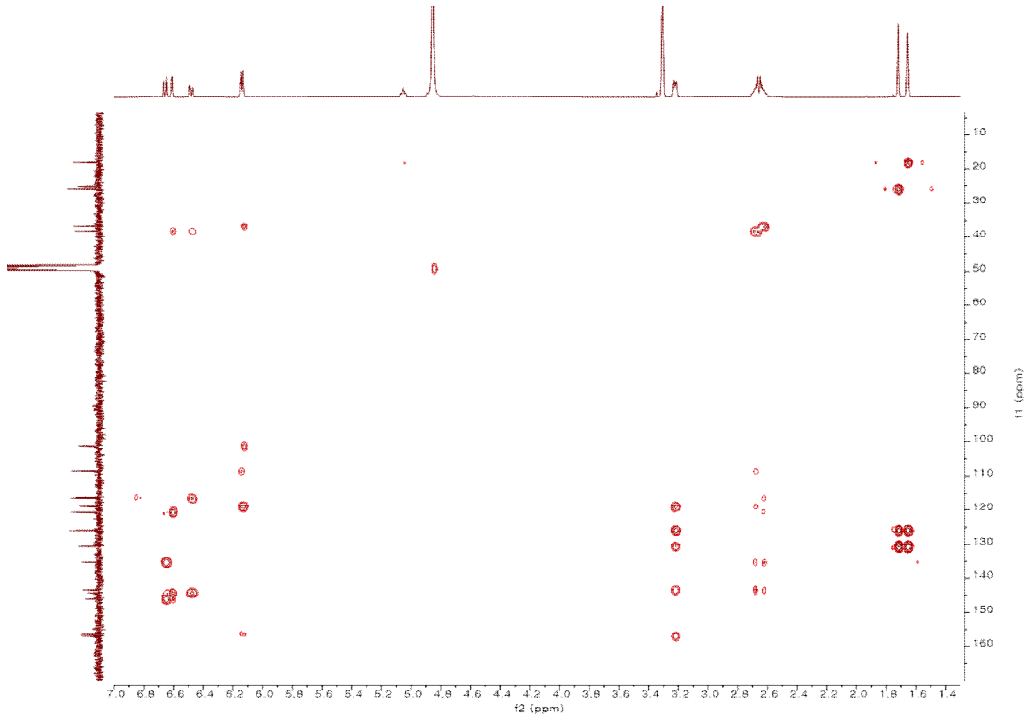


Figure 94. HMBC spectrum of compound **19** in MeOH−d_4

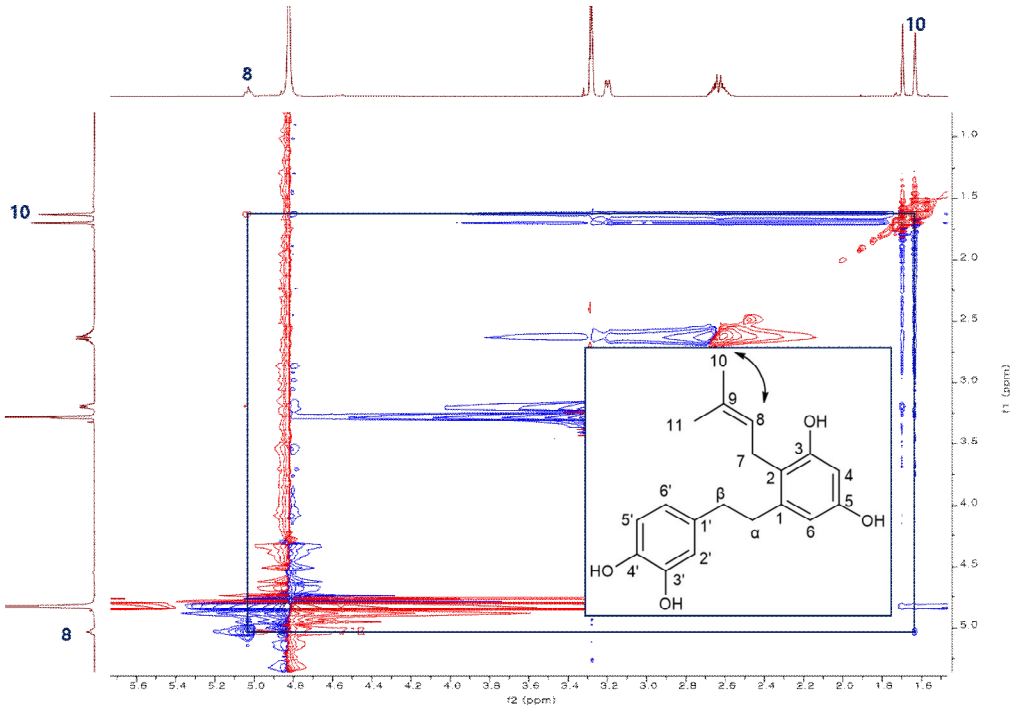


Figure 95. NOESY spectrum of compound **19** in MeOH−d_4

3.1.20. 화합물 20

화합물 20은 노란색 분말 성상을 가지며, HRESIMS의 negative mode 측정 결과로 HRESIMS *m/z* 529.1340 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{25}O_{12}$, 529.1346) 값을 가지고 분자식은 $C_{26}H_{26}O_{12}$ 이다. UV spectrum을 통해 λ_{max} 201, 216, 245, 332 nm 값을 가진다. ^{1}H NMR spectrum에서 수소 δ_H 7.04 (1H, s, H−2''), 6.99 (1H, m, H−6''), 6.76 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H−5'')와 δ_H 7.04 (1H, s, H−2') 6.99 (1H, m, H−6'), 6.76 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H−5') proton signal은 한 쌍의 1,3,4−trisubstituted aromatic ring 위에 있음을 예상할 수 있다. δ_H 7.50 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H−7'')/δ_H 6.26 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H−8'') 와 δ_H 7.41 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H−7')/δ_H 6.13 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H−8') COSY correlation과 δ_H 7.50 (H−7'')/δ_C 166.0 (C−9''), 125.4 (C−1''), 121.4 (C−6''), 114.9 (C−2''), δ_H 7.41 (H−7')/δ_C 165.3 (C−9'), 125.2 (C−1'), 121.5 (C−6'), 114.8 (C−2') HMBC 상관관계로 한 쌍의 caffeic acid methyl ester moiety와 δ_H 3.59 (1−COOC<u>H</u>$_3$)/δ_C 173.4 (1−<u>C</u>OO) HMBC 상관관계로 acetyl ester group 존재를 확인하였다. ^{13}C NMR spectrum에서 δ_C 73.1 (C−1), 72.0 (C−4), 67.8 (C−3), 65.2 (C−5)은 산소가 결합된 탄소에 결합된 수소 간의 COSY correlation과 δ_H 2.24 (H−6)/δ_C 173.4 (1−<u>C</u>OO), 73.1 (C−1) HMBC 상관관계로 methyl (−)−quinate moiety를 알 수 있었다. 또한 δ_H 4.96 (H−4)/δ_C 166.0 (C−9'') 와 δ_H 5.26 (H−3)/δ_C 165.3 (C−9') HMBC 상관관계로 caffeic acid methyl ester의 위치를 특정할 수 있었다. 이상의 결과를 토대로 문헌과 비교하였을 때, 화합물 20을 methyl 3,4−di−O−caffeoyl quinate로 동정하였다 (Chen et al., 2014).

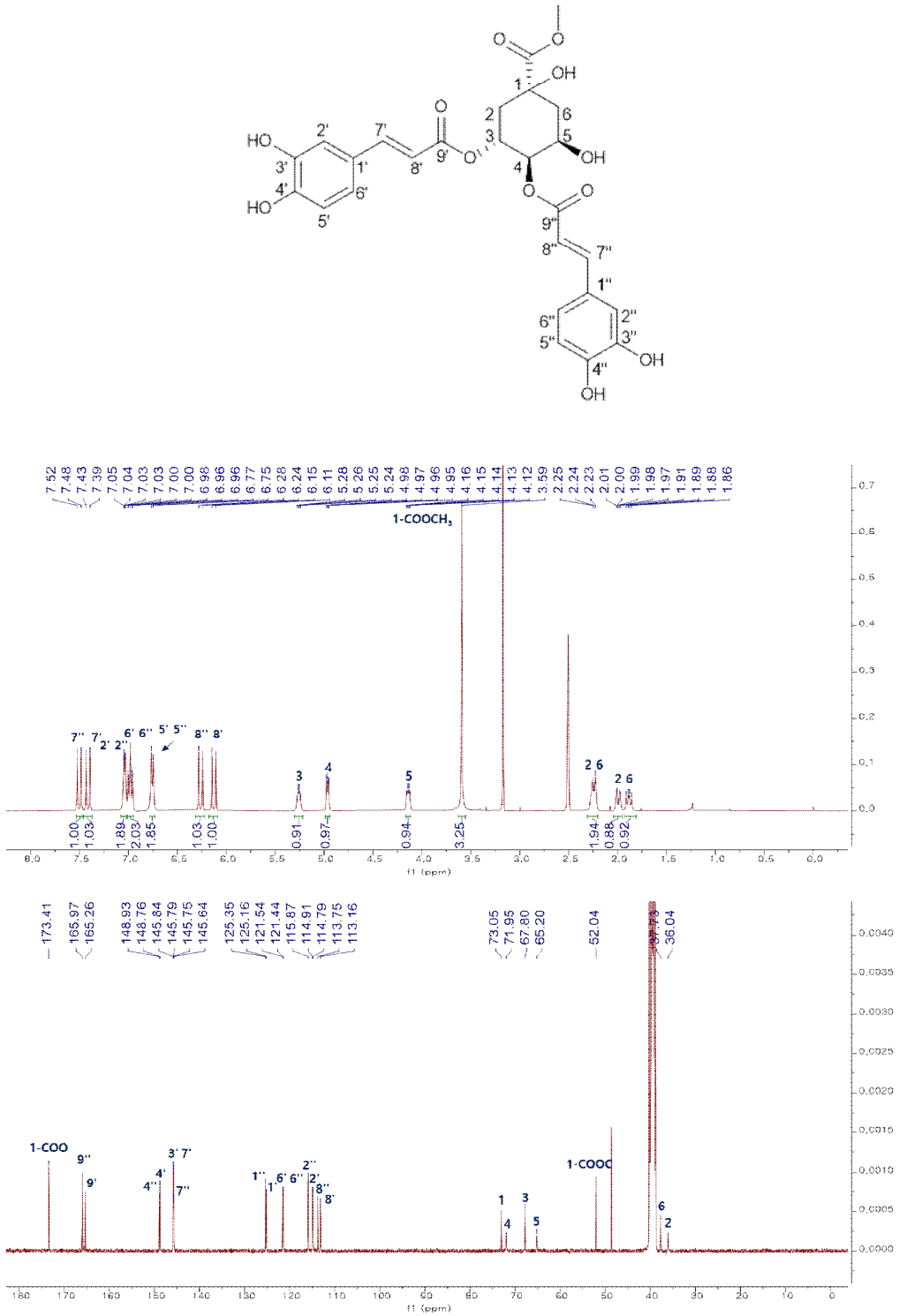


Figure 96. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra of compound **20** (recorded at 400/100 MHz, DMSO−d_6)

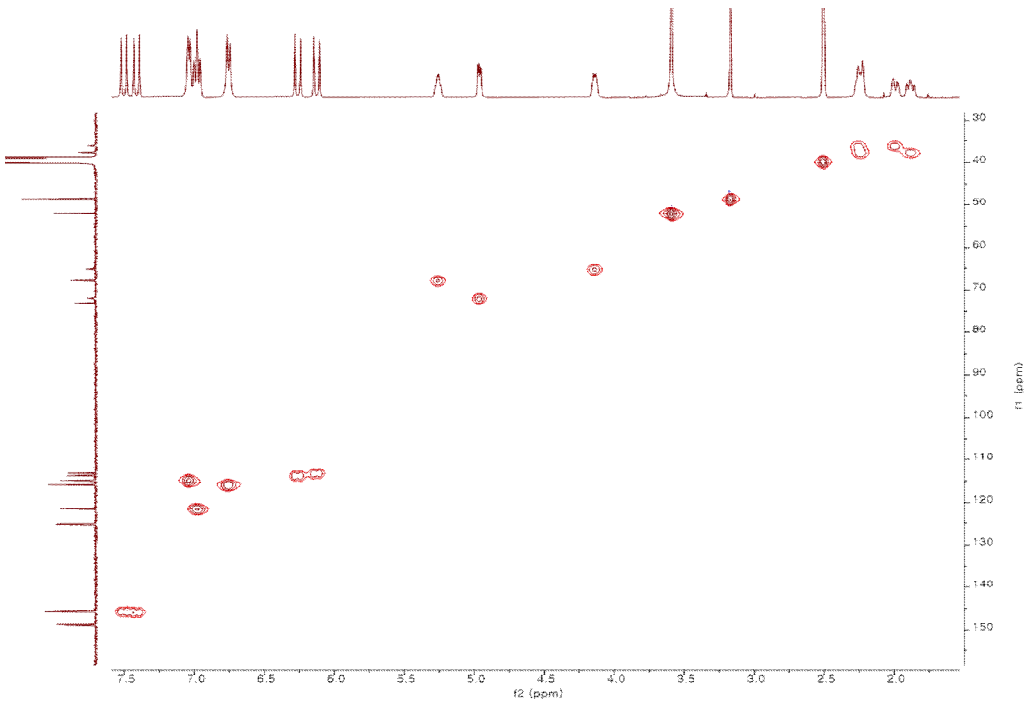


Figure 97. HSQC correlations of compound **20** in DMSO−d_6

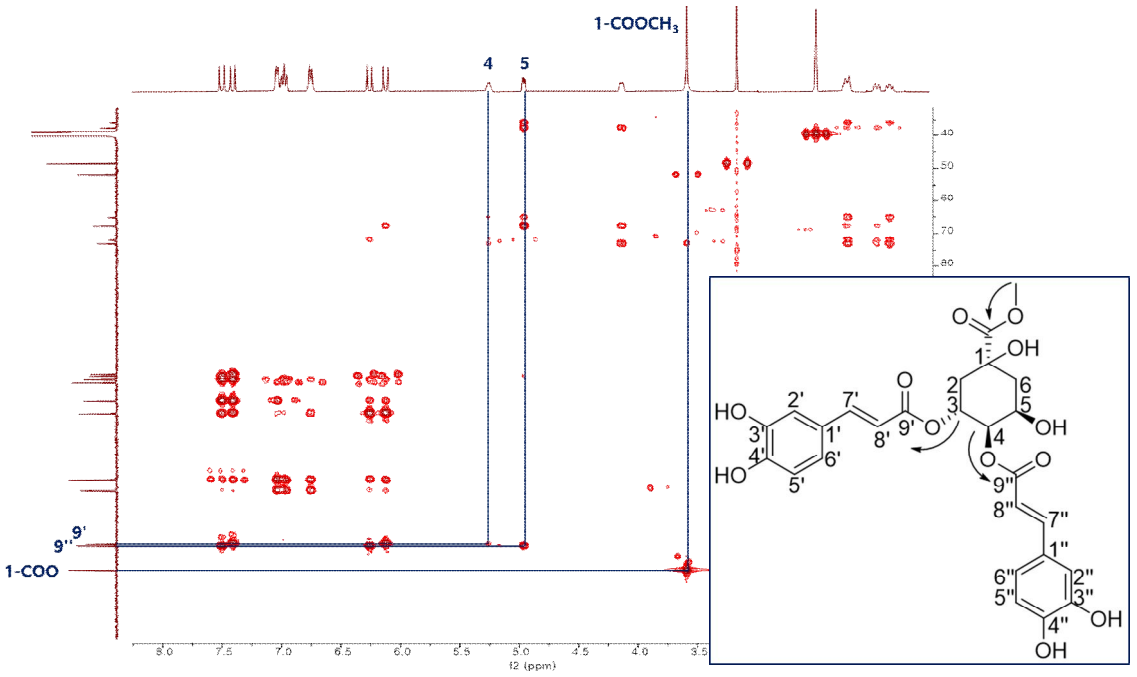


Figure 98. Key HMBC correlations of compound **20** in DMSO−d_6

제 4 장 결 론

J. vulgaris에 대한 선행연구에서는 pyrrolizidine alkaloid 계열 분석 연구가 주로 이루어졌으며, *J. vulgaris*에서 flavonoid인 quercetin의 발견으로 pyrrolizidine alkaloid 이외에 다른 계열의 화합물의 존재를 예상할 수 있었다 (Bovee et al., 2015). 본 연구에서는 *J.* vulgaris에 있는 flavonoid을 포함한 특이적인 새로운 화학성분을 분리하기 위한 연구를 시행하였다.

다양한 column chromatography 방법을 통해 *J. vulgaris* 잎과 줄기 부위의 MeOH 추출물에서 총 20 종의 화합물을 분리하였다. 12종의 dihydrostilbene, 7종의 flavonoid, 1종의 caffeoylquinic acid 총 20종의 화합물을 분리하였으며, 분리한 화합물 중 12종의 화합물 jacovulgarin A–G (**1**, **4**, **5**, **6**, **9**, **10**, **11**), 3'–dehyroxy gancaonin R (**2**), 4'–methoxy–gancaonin R (**3**), 3–dehyroxy gancaonin T (**7**), 3–acetyl gancaonin T (**8**), 8–prenylnaringenin trans–alcohol (**12**)의 경우 천연에서 처음으로 분리 보고되는 신규 화합물이었다. 신규 화합물은 11종의 dihydrostilbene (**1–11**)과 1종의 flavanone (**12**) 계열의 화합물이었다. Quercetin(**13**)을 포함한 isoquercetin (**14**), chrysoeriol (**15**), sophoraflavanone B (**16**), 6–C–prenyl luteolin (**17**), 6–prenylapigenin (**18**), 4–(3,5–dihydroxy–2–(3–methylbut–2–en–1–yl)phenethyl)benzene–1,2–diol (**19**), methyl 3,4–di–O–caffeoyl quinate (**20**) 8 종의 화합물도 동정하였다. 따라서 *J.* vulgaris에는 pyrrolizidine alkaloid 이외의 다양한 페놀성 화학성분이 존재하는 것을 확인하였다.

참고 문헌

Abegaz, B., Ngadjui, B., Dongo, E., & Tamboue, H. (1998). Prenylated chalcones and flavones from the leaves of dorstenia kameruniana. *Phytochemistry (Oxford), 49*(4), 1147-1150.

Bovee, T., Helsdingen, R., Hoogenboom, R., De Nijs, M., Liu, X., Vrieling, K., Klinkhamer, P., Peijnenburg, A., & Mulder, P. (2015). Are effects of common ragwort in the Ames test caused by pyrrolizidine alkaloids? *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 778*, 1-10.

Chadwick, L., Nikolic, D., Burdette, J., Overk, C., Bolton, J., Van Breemen, R., Fröhlich, R., Fong, H., & Pauli, G. (2004). Estrogens and Congeners from Spent Hops (Humulus l upulus). *Journal of Natural Products (Washington, D.C.), 67*(12), 2024-2032.

Cheeke, P. R. (1989). *Toxicants of plant origin: alkaloids* (Vol. 1). CRC Press.

Chen, J., Mangelinckx, S., Ma, L., Wang, Z., Li, W., & De Kimpe, N. (2014). Caffeoylquinic acid derivatives isolated from the aerial parts of Gynura divaricata and their yeast α-glucosidase and PTP1B inhibitory activity. *Fitoterapia*, *99*, 1-6.

Chen, T., Mei, N., & Fu, P. (2010). Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology, 30*(3), 183-196.

Clark, A. M. (1976). Naturally occurring mutagens. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, *32*(3-4), 361-374.

Crews, C., Driffield, M., Berthiller, F. and Krska, R., 2009. Loss of pyrrolizidine alkaloids on decomposition of ragwort (Senecio jacobaea) as measured by LC–TOF–MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(9), pp.3669–3673.

Czeczot, H., Tudek, B., Kusztelak, J., Szymczyk, T., Dobrowolska, B., Glinkowska, G., Malinowski, J., & Strzelecka, H. (1990). Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. *Mutation Research/Genetic Toxicology, 240*(3), 209–216.

D'Andrea, G. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia, 106*, 256–271.

Deinzer, M., Thomson, P., Burgett, D., & Isaacson, D. (1977). Pyrrolizidine Alkaloids: Their Occurrence in Honey from Tansy Ragwort (Senecio jacobaea L.). *Science (American Association for the Advancement of Science), 195*(4277), 497–499.

Fukai, T., Qing–Hua, W., & Nomura, T. (1991). Six prenylated phenols from Glycyrrhiza uralensis. *Phytochemistry*, *30*(4), 1245–1250.

Harper, J. L., & Wood, W. A. (1957a). Senecio Jacobaea L. *Journal of Ecology*, *45*(2), 617–637.

Harper, J. L., & Senecio, J. L. (1957b). *Biological flora of the British Isles*.

Huang, H. J., Ling, T. J., Wang, H. M., Cao, A. C., Zhang, C. X., & Wei, S. H. (2017). One new flavonoid from Solanum rostratum. *Natural Product Research*, *31*(15), 1831–1835.

Jetson, R., Malik, N., Luniwal, A., Chari, V., Ratnam, M., & Erhardt, P. (2013). Practical synthesis of a chromene analog for

use as a retinoic acid receptor alpha antagonist lead compound. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *63*, 104−108.

Kalač, P., & Kaltner, F. (2021). Pyrrolizidine alkaloids of European Senecio/Jacobaea species in forage and their carry−over to milk: A review. *Animal Feed Science and Technology*, *280*, 115062.

Kedzierski, B., & Buhler, D. R. (1986). Method for determination of pyrrolizidine alkaloids and their metabolites by high−performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, *152*(1), 59−65.

Leiss, K. A. (2011). Management practices for control of ragwort species. *Phytochemistry Reviews*, *10*(1), 153−163.

Li, J., Chen, R., Wang, R., Liu, X., Xie, D., Zou, J., & Dai, J. (2014). GuA6DT, a Regiospecific Prenyltransferase from Glycyrrhiza uralensis, Catalyzes the 6-Prenylation of Flavones. *ChemBioChem*, *15*(11), 1673−1681.

Li, P., Chai, W. C., Wang, Z. Y., Tang, K. J., Chen, J. Y., Venter, H., Semple, S., & Xiang, L. (2021). Bioactivity−guided isolation of compounds from Sophora flavescens with antibacterial activity against Acinetobacter baumannii. *Natural Product Research*, 1−9.

Macgregor, J. T., & Jurd, L. (1978). Mutagenicity of plant flavonoids: structural requirements for mutagenic activity in Salmonella typhimurium. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, *54*(3), 297−309.

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in

humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *81*(1), 230S–242S.

Martinez, S. E., Lakowski, T. M., & Davies, N. M. (2014). Enantiospecific analysis of 8-prenylnaringenin in biological fluids by liquid-chromatography-electrospray ionization mass spectrometry: application to preclinical pharmacokinetic investigations. *Chirality*, *26*(8), 419–426.

Mezache, N., Derbré, S., Laouer, H., Richomme, P., Séraphin, D., & Akkal, S. (2019). Senecipyrrolidine, an unusual pyrrolidine alkaloid isolated from Jacobaea gigantea (Desf.) Pelser (Asteraceae). *Natural Product Research*, *33*(15), 2182–2191.

Nikolic, D., Li, Y., Chadwick, L. R., & van Breemen, R. B. (2006). In vitro studies of intestinal permeability and hepatic and intestinal metabolism of 8–prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops (Humulus lupulus L.). *Pharmaceutical Research*, *23*(5), 864–872.

Nishina, A., Itagaki, M., Suzuki, Y., Koketsu, M., Ninomiya, M., Sato, D., Suzuki T, Hayakawa S, Kuroda M, & Kimura, H. (2017). Effects of flavonoids and triterpene analogues from leaves of Eleutherococcus sieboldianus (Makino) Koidz. 'Himeukogi' in 3T3–L1 preadipocytes. *Molecules*, *22*(4), 671.

Pailee, P., Sangpetsiripan, S., Mahidol, C., Ruchirawat, S., & Prachyawarakorn, V. (2015). Cytotoxic and cancer chemopreventive properties of prenylated stilbenoids from Macaranga siamensis. *Tetrahedron*, *71*(34), 5562–5571.

Pelser, P. B., Gravendeel, B., & van der Meijden, R. (2002). Tackling speciose genera: species composition and phylogenetic

position of Senecio sect. Jacobaea (Asteraceae) based onplastid and nrDNA sequences. *American Journal of Botany*, *89*(6), 929–939.

Pelser, P., Veldkamp, J. and & van der Meijden, R., (2006). New combinations in Jacobaea Mill. *Asteraceae–Senecioneae). Compositae Newsletter*, *44*, 1–11.

Pretsch, E., Bühlmann, P., Affolter, C., Pretsch, E., Bhuhlmann, P., & Affolter, C. (2009). *Structure Determination of Organic Compounds* (Vol. 13, pp. 269–335). Berlin: Springer.

Rubiolo, P., Pieters, L., Calomme, M., Bicchi, C., Vlietinck, A., & Berghe, D. V. (1992). Mutagenicity of pyrrolizidine alkaloids in the Salmonella typhimurium/mammalian microsome system. *Mutation Research Letters*, *281*(2), 143–147.

Slade, D., Ferreira, D., & Marais, J. (2005). Circular dichroism, a powerful tool for the assessment of absolute configuration of flavonoids. *Phytochemistry, 66*(18), 2177–2215.

Tajuddeen, N., Swart, T., Hoppe, H., & van Heerden, F. (2021). Antiplasmodial and cytotoxic flavonoids from pappea capensis (Eckl. & zeyh.) leaves. *Molecules (Basel, Switzerland), 26*(13), 3875.

Tasnuva, S., Qamar, U., Ghafoor, K., Sahena, F., Jahurul, M., Rukshana, A., . . . Zaidul, I. (2019). α–glucosidase inhibitors isolated from Mimosa pudica L. *Natural Product Research, 33*(10), 1495–1499.

Van der Meijden, E., & Van der Waals–Kooi, R. (1979). The Population Ecology of Senecio Jacobaea in a Sand Dune System: I. Reproductive Strategy and the Biennial Habit. *The Journal of Ecology, 67*(1), 131–153.

White, R. D., Krumperman, P. H., Cheeke, P. R., Deinzer, M. L., & Buhler, D. R. (1984). Mutagenic responses of tansy ragwort (Senecio jacobaea) plant, pyrrolizidine alkaloids and metabolites in goat milk with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Journal of Animal Science*, *58*(5), 1245-1254.

Wiedenfeld, H. (2011). Plants containing pyrrolizidine alkaloids: Toxicity and problems. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 28*(3), 282-292.

Xu, Y., Tao, Z., Jin, Y., Yuan, Y., Dong, T. T., Tsim, K. W., & Zhou, Z. (2018). Flavonoids, a potential new insight of Leucaena leucocephala foliage in ruminant health. *Journal of agricultural and food chemistry*, *66*(29), 7616-7626.

Yus, M., Foubelo, F., Ferrández, J. V., & Bachki, A. (2002). Reductive lithiation of cyclic benzofused ethers: a source of oxygen-functionalised organolithium compounds. *Tetrahedron*, *58*(24), 4907-4915.

Zierau, O., Hauswald, S., Schwab, P., Metz, P., & Vollmer, G. (2004). Two major metabolites of 8-prenylnaringenin are estrogenic in vitro. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *92*(1-2), 107-110.

Abstract

Dihydrostilbenes and flavonoids from the leaves and branches of *Jacobaea vulgaris*

LEE Shinae
Pharmacognosy
The Graduate School
Seoul National University

Jacobaea vulgaris Gaertn. (syn. *Senecio jacobaea* L.) is flowering plant classified under Asteraceae Family, and is widely distributed in Europe, West Asia, North America, Australian and New Zealand. *J.vulgaris* is used as medicinal plant to treat various diseases in Malaysia, Indonesia and India, while being consumed as tea in Western Europe. Furthermore, this plant contains pyrrolizidine alkaloids, such as senecionine, jaconine, etc., which may cause hepatotoxicity. This research aims to investigate chemical compounds other than pyrrolizidine alkaloids.

Using various column chromatography methods for methanol extract of *J.vulgaris* leaves and branches, twenty compounds were isolated in total, including twelve dihydrostilbenes, seven flavonoids, and one caffeoylquinic acid. Various physicochemical and spectroscopic methods (1D and 2D NMR spectroscopy, LC-MS, HRESIMS, and ECD) confirmed chemical structures of new natural compounds including eleven dihydrostilbene (**1-11**) and one

flavanone (12). Past research papers were used as reference to confirm chemical structures of eight known compounds (six flavonoids, 1 dihydrostilbene, 1 caffeoylquinic acid).

Keywords : *Jacobaea vulgaris*, Asteraceae, dihydrostilbene, flavonoid
Student Number : 2020-25439