

애기땅빈대의 Terpenoid 成分에 관한 研究

鄭 普 燮 · 金 河 均

서울대학교 약학대학

Studies on the Terpenoid constituents of *Euphorbia supina* Rafin

Bo Sup CHUNG and Ha Gyun KIM

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—Isomotioliol (fern-8-en-3 β -ol) was isolated from the n-hexane fraction of *Euphorbia supina* Rafin. The structure of isomotioliol was identified by IR, NMR, Mass spectra and compared with the authentic sample. Isomotioliol was first isolated from the family of Euphorbiaceae.

Keywords—*Euphorbia supina* · triterpene · isomotioliol

애기땅빈대(*Euphorbia supina* Rafin)는 대극과(Euphorbiaceae)의 Euphorbia屬에 속하는 1년생 초본이다. 대극과는 세계적으로 대개 238屬 7300種이 있어 분포와 종류가 광범하며,¹⁾ 한국에는 10屬 22種이 자생하고 있다.²⁾ 대극과 식물은 일반적으로 藥用 및 독성을 나타내는 것이 많은 것으로 알려져 있으며 각종 alkaloid, terpenoid 등의 다양한 성분이 밝혀져 있다. 최근 Euphorbia屬 식물에서는 *Croton tiglium*에서 최초로 발견된 phorbol과 ingenol type의 skin irritant, tumor promoting 및 antileukemic activity를 나타내는 각종의 polycyclic diterpene이 관심을 끌고 있으며,³⁾ 또한 지금까지 다양한 triterpene 成分이 보고되어 있다.

한편 Euphorbia屬 식물에서는 oleanane, lupane, ursane 및 friedelane type 등의 pentacyclic triterpene과 euphane, lanostane 및 cycloartane type 등의 tetracyclic triterpene이 알려져있는데 아직까지 fernane type의 triterpene은 보고된 바 없다. Fernane type의 triterpene은 1963년 H. Ageta 등⁴⁾에 의하여 양치식물인 *Dryopteris crassirhizoma*에서 fernene이 처음 발견되었으며, 고등식물에서는 1965년 Nakamura 등⁵⁾에 의하여

*Rhododendron linearifolium*에서 motioliol과 Arthur 등⁶⁾에 의해 *R. simiarum*에서 simiarenenol이 처음 보고되었다.

본 실험에서는 Euphorbia屬 식물로 우리나라에 자생하고 있는 *E. supina*의 terpenoid 成分을 검색하여 n-hexane 분획에서 column chromatography法으로 단일한 물질을 얻었고, 이것은 지금까지 대극과에서는 보고된 바 없는 fernane type의 triterpene인 isomotioliol임을 밝혔다.

실 험 부

가) 재료, 시약 및 시기

1. 재료

서울 특별시 관악산에서 1981년 9월에 채집한 *Euphorbia supina*의 전초를 음건 후 조말로하여 사용하였다.

2. 시약

시약은 분석용 一級시약을 사용하였고 용매는 모두 사용직전에 증류하여 사용하였으며 column chromatography用 흡착제로는 230mesh 이하의 silica gel 60 (E. Merck)를 썼으며, TLC用으로는 silica gel G (E. Merck)를 사용하였다.

3. 기기

본 실험에 사용된 기기로서, MP 측정기는 Gallenkamp(uncorrected), UV spectrometer는 Hitachi Model ESP-3T Recording spectrophotometer, IR는 Beckman IR-20A(KBr disc), H¹-NMR은 Jeol FX 100(100MHz), C¹³-NMR은 Jeol FX 100(25MHz), 그리고 Mass는 Jeol JMS-D-200를 사용하였다.

나) 추출 및 분리

음건한 시료 740g을 조말로 한 후 methanol 1.5l를 가하여 냉침하여 3회 추출하고 40°C에서 감압농축하여 n-hexane fraction과 ether fraction으로 나누어, TLC상에서 anisaldehyde/H₂SO₄와 vanillin/H₂SO₄ 발색시약으로 terpene 성분을 검색하였으나 Ingenol type의 diterpene이 있을 수 있는 ether fraction에서는 terpene 성분을 확인할 수 없었다.

n-hexane 분획을 silica gel column chromatography(용매 n-hexane : EtOAc=20 : 1)를 사용하여 분리한 결과 comp. I을 얻었다.

다) 이화학적 분석

1. Comp. I의 물리화학적 성질

Column chromatography를 통하여 분리한 comp. I을 EtOAc-MeOH 混液에서 3번 재결정하여 백색 침상 결정을 얻었다. 이 물질은 서로 다른 용매 조성을 가진 3가지 전개용매들의 TLC에서 단일한 spot를 나타냈다.

mp : 189 ~ 190° (uncorrected), Liebermann-Burchard반응 : 陽性(pink)

ir : 3450cm⁻¹(-OH), 1640cm⁻¹(double bond), 1380cm⁻¹(doublet), 1170cm⁻¹(gemdimethyl)
uv : no absorption above 200nm.

H¹-nmr (Fig. 1) : δ3.24(1H, q, C₃-proton), δ1.00(3H, s), δ0.95(6H, s) δ0.89(3H, d, J=6.2Hz), δ0.83(3H, d, J=6.2Hz), 0.80(3H, s), δ0.77(6H, s)

C¹³-nmr : 134.46(s), 134.31(s) (C=C), 79.09(d) (CH-OH), 59.95(d), 52.87(d) 50.63(d), 43.02(s), 41.22(s), 39.01(s), 37.74(s), 36.89(s), 36.09(t), 35.60(t), 30.81(d), 30.44(t), 28.43(t), 28.16(t, q), 27.36(t), 27.11(t), 23.00(q), 22.18(2×q), 20.50(t), 20.30(q) 19.26(t), 19.02(t), 15.96(q), 15.61(q), 14.71(q)

ms (Fig. 2) : 426(M⁺), 411(M⁺-CH₃), 393

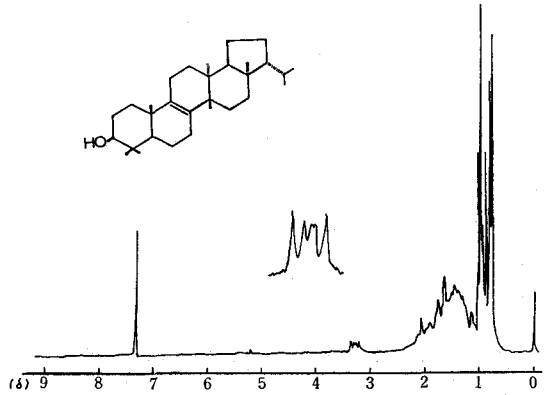
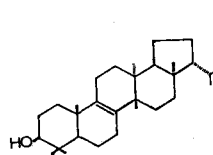


Fig. 1. H¹-NMR spectrum of compound I (100MHz, CDCl₃, int. TMS standard).

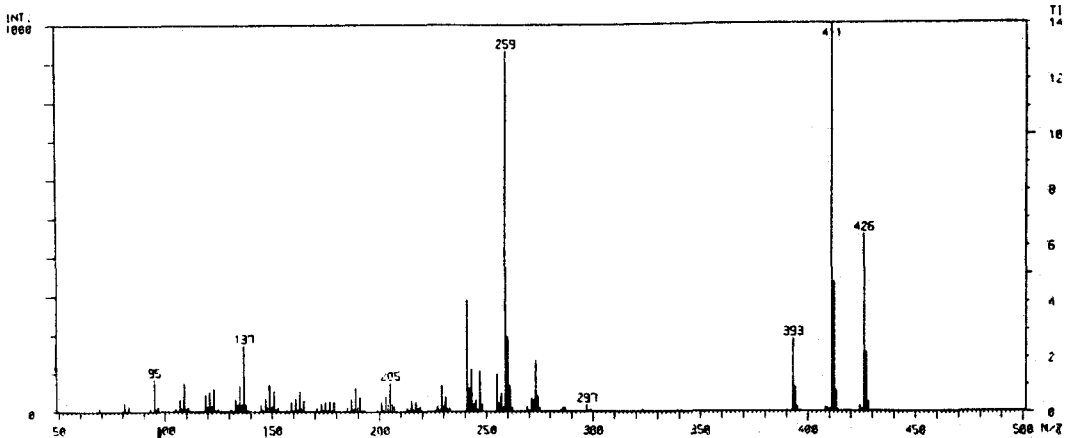


Fig. 2. Mass spectrum of compound I.

(M⁺-CH₃-H₂O), 297(gg),* 273(ff), 259(ee), 255(ff-H₂O), 247(dd), 241(eeH-H₂O), 229(dd-H₂O), 205(bb)

* Fig. 3 참조.

2. **Comp. I**의 acetate제 **Comp. II**의 합성 comp. I 100mg을 무수 pyridine 1ml에 녹인 후 acetic anhydride 3ml을 加하여 실온에서 24시간 반응시킨 후 냉수를 가하여 반응을 중지시키고 여과한 후 EtOAc-MeOH 混液에서 재결정하여 comp. II 80mg을 얻었다.

mp : 214~215°(uncorrected)

ir : 1735, 1240cm⁻¹ (—O—CO—CH₃), 1650 cm⁻¹(double bond)

H¹-nmr : 4.49(1H, q, CH—OAc), 2.05(3H, s—O—CO—CH₃), 0.97(3H, s), 0.95(3H, s), 0.89(3H, d), 0.87(6H, s), 0.82(3H, d), 0.76(3H, s), 0.75(3H, s)

C¹³-nmr : 171.13(s, C=O), 134.46(s), 134.34(s), (C=C), 81.17(d, CH—OAc), 60.00(d), 52.97(d), 50.75(d), 43.10(s), 41.26(s), 38.02(s), 37.67(s), 36.94(s), 36.15(t), 35.36(t), 30.92(d) 30.45(t), 28.56(t), 28.20(q), 27.27(t), 27.18(t), 24.52(t), 23.15(q), 22.28(2×q), 21.46(q), 20.59(t), 20.47(q), 19.18(t), 19.10(t), 16.79(q), 15.94(q), 14.80(q)

ms : 468(M⁺), 453(M—CH₃), 393(M—CH₃—CH₃COOH), 315(ff), 301(ee) 297(gg), 289(dd), 255(ff-CH₃COOH), 241(ee-CH₃COOH), 229(dd-CH₃COOH), 205(bb)

II. 실험

comp. I은 질량분석에서 분자량 426, C₃₀H₅₀O의 분자식을 얻었고 Liebermann-Burchard 반응이 양성(pink)으로 triterpene임을 알 수 있었다.

comp I은 IR spectrum에서 3450cm⁻¹에 broad한 hydroxy基의 peak를 확인할 수 있었으며, comp I을 常法으로 acetylation시킨 결과 comp I의 monoacetate體인 comp II를 얻었고(NMR), IR에서 OH peak가 없어진 점으로 보아 분자내에 한개의 secondary hydroxy基를 가지고 있다

는 것을 알 수 있다. hydroxy基는 triterpene의 일반적인 생합성과정과 angular methyl peak의 H¹-NMR chemical shift가 δ1.0을 벗어나지 않는 점으로 보아 3번탄소에 결합되었다고 추정할 수 있으며 H¹-NMR에서 δ3.24에 proton 1個에 해당되는 quartet가 acetylation으로 δ4.49로 down field shift 되었는데 이것은 C₃의 axial proton으로 해석되었고, 이 peak의 chemical shift와 coupling constant로 보아 β-OH임을 알 수 있다.⁷⁾ (J_{ax/ax}=10, J_{ax/eq}=5Hz) comp I은 IR spectrum에서 1640cm⁻¹의 peak로 double bond를 예상할 수 있었으나, C¹³-NMR에서 olefinic carbon을 2個만 확인할 수 있어 comp I의 분자식 C₃₀H₅₀O의 불포화도 6으로써 comp I은 內環性二重結合을 1個가지는 pentacyclic triterpene임을 추정할 수 있었다. double bond는 H¹-NMR에서 olefinic proton의 peak를 볼 수 없는점과 C¹³-NMR의 OFR에서도 olefinic carbon이 singlet으로 나타나는 점으로 보아 tetrasubstituted이며, C¹³-NMR에서 olefinic carbon의 chemical shift가 134.46, 134.31ppm으로 거의 동일한 것으로 보아 C₈₍₉₎에 位置한 것으로 추정되었다.^{8,9)}

comp I의 H¹-NMR spectrum에서 6個의 angular methyl에 의한 sharp singlet을 볼 수 있었으나 δ0.83과 δ0.89의 doublet으로 분자내에 secondary methyl基가 있다는 것을 알 수 있으며 이로써 comp I은 oleanane 또는 migrated oleanane type의 가능성은 배제될 수 있다.¹⁰⁾ 또 이들 δ0.83과 δ0.89에 overlapping doublet으로 나타난 methyl peak는 coupling constant가 동일함으로 인접한 methyl proton에 의해 splitting된 chiral center 부근에 위치할 isopropyl基로 추정되었으며¹¹⁾ 이것은 IR에서 1380cm⁻¹의 doublet peak와 1170cm⁻¹의 peak로도 확인할 수 있었다.

Mass spectrum에서 comp I과 comp II는 각각 m/e 259와 m/e 301에서 base peak 또는 이에 준하는 매우 강한 intensity를 가지는데, 이것은 C₈₍₉₎ 또는 C₉₍₁₁₎에 double bond를 가지는 triterpene에서 특징적인 것이다.^{4,12,13,14)} H¹-NMR과 C¹³-NMR spectrum에서 확인된 tetrasubstituted double bond라는 점을 생각할 때 double

bond는 C₈₍₉₎에 위치한다는 것을 알 수 있다.

한편 M⁺-167 ion과 M⁺-179 ion의 intense peak는 C₁₃과 C₁₄에 methyl基를 가지는 bauerene type 및 이와 유사한 triterpen의 특징적인 peak인데, 이들 화합물은 C₁₃의 methyl基에 의한 strain으로 주로 C/D ring juncture에서 fragmentation이 일어나며 (Fig. 3), 각 fragment ion의 intensity에 있어서만 차이가 난다.¹⁵⁾

Table 1에서 보는바와 같이 bauerene과 multiflorene type triterpene의 경우 bb, cc 또는 dd ion peak의 intensity가 비교적 큰데 비해 fernane과 arborane type의 경우 ee ion의 intensity가 대단히 큰 반면 bb와 cc ion의 intensity가 대단히 작다. 이로 미루어 보아 comp. I은 fernane 또는 arborane skeleton을 가지고 있다는 것을 알 수 있다.

이상의 결과와 comp. I의 mass spectrum의 fragment ion의 abundance 및 mp 등으로 미루

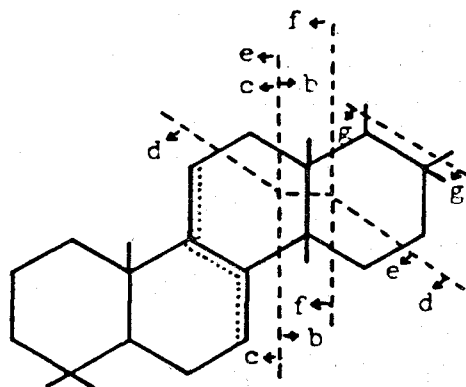


Fig. 3. Fragmentations of D:C- or E:C- friedo Triterpenoids.

어보아 comp. I은 isomotiol¹⁶⁾로 추정되었고, 두 물질은 mp, TLC, IR spectrum으로 비교동정하여 일치하였다.

Table 1. Comparison of the mass spectra of D:C- and E:C- friedo triterpenoids.^{10, 16)}

	b-b	c-c	d-d	e-e	f-f	g-g	M ⁺ -15	M ⁺
Multiflor-7-ene	205 (60)	204(100)	231 (66)	243 (58)	257 (12)		395 (16)	410 (8)
Multiflor-7-en-3-one	205 (55)	218(100)	245 (38)	257 (34)	271 (8)		409 (10)	424 (8)
Multiflor-8-en-3-one	205(100)	218 (12)	245 (45)	257 (62)			409 (10)	424 (8)
Bauer-7-ene	205 (8)	204 (20)	231(100)	243 (20)	257 (8)		395 (18)	410 (10)
Bauer-7-en-3-oen	205 (22)	218 (10)	245(100)	257 (20)	271 (15)		409 (14)	424 (16)
Fern-9(11)-ene			231 (17)	243(100)	257 (20)		395 (40)	410 (11)
Arundoin*	205 (10)		261 (6)	273 (68)	287 (8)	355 (3)	425(100)	440 (78)
			229 (13)	241 (47)	255 (16)	323 (5)	393 (40)	
Ferneol*	205 (10)		247 (15)	259(100)	273 (18)	341 (5)	411 (87)	426 (30)
			229 (17)	241 (50)	255 (17)	323 (5)	393 (25)	
Fern-8-ene			231 (14)	243(100)	257 (16)		395 (32)	410 (17)
Fern-8-en-3-one	205 (7)		245 (14)	257(100)	271 (10)		409 (71)	424 (42)
3β-Methoxyfern-8-ene*	205 (10)		261 (10)	273 (78)	287 (10)		425(100)	440 (75)
			229 (15)	241 (60)	255 (18)		393 (40)	
Arbor-9(11)-ene			231 (18)	243(100)	257 (28)	325 (10)	395 (66)	410 (38)
Arborenone			245 (25)	257(100)	271 (38)	339 (30)	409 (98)	424 (62)
Cylindrin*			261 (5)	273 (45)	287 (10)	355 (5)	425 (76)	440(100)
			229 (10)	241 (26)	255 (14)	323 (7)	393 (34)	
Isomotiol*			247 (16)	259 (96)	273 (17)		411(100)	426 (48)
				241 (48)			393 (27)	

*Figures shown in the lower line indicate those corresponding to the peak shown in the upper line-MeOH or H₂O.

결 론

대극과(Euphorbiaceae)에 속하는 에기 땅빈대 (*Euphorbia supina*)의 진초에서 분자식 $C_{30}H_{50}O$ 인 백색 결정성 물질을 얻었고 이 물질은 fernane type의 triterpene alcohol인 isomotiolum을 밝혔다.

謝辭—本 實驗에서 NMR 및 Mass Spectra를 測定해 주신 東京 國立衛生試驗所의 義平邦利 博士님과 isomotiolum 標品을 보내 주신 H. Singh 博士님께 감사드립니다.

〈1985년 8월 10일 접수 : 9월 8일 수리〉

文 獻

1. 林基興: 藥用 植物學(各論), 東明社(1969).
2. 李昌福: 大韓植物圖鑑, 鄉文社(1979).
3. Evans, F.J. and Soper C.J.: *Lloydia*, **41**, 193 (1978).
4. Ageta, H., Itawa, K. and Natori, S.: *Tetrahedron lett.* 1447 (1963)
5. Nakamura, S. et al.: *Nippon Kagaku Zasshi*, **86**, 106 (1965)
6. Arthur, H.R. Hui W.H. and Alpin, R.T.: *Tetrahedron lett.*, 937 (1965)
7. Yamaguchi, K.: Spectral data of Natural Products, Vol. 1, p.145, Elsevier Publishing Company New York (1970)
8. Knight, S.A.: *Tetrahedron lett.*, 83 (1973)
9. Beierbeck, H. Saunders J.K. and Apsimon J.W.: *Can. J. Chem.*, **55**, 2813 (1977)
10. Nishimoto, K. Ito, M. Natori S. and Ohmoto, T.: *Tetrahedron*, **24**, 735 (1968)
11. Silverstein, R.M. Bassler G.C. and Morrill, T.C.: Spectrometric Identification of Organic Compounds, p.208, John Wiley & Sons, New York (1981).
12. Eglinton, G. Hamilton, R.J. Martin-Smith, M. Smith, S.J. and Subramanian, G.: *Tetrahedron lett.*, 2323 (1964).
13. Nakanishi, K. Lin, Y-Y. Kakisawa, H. Hsü H.Y. and Hsiu, H.C.: *Ibid.*, 1451 (1963)
14. Budzikiewicz, H. Wilson, J.M. and Djerassi, C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3688 (1963)
15. Budzikiewicz, H. Djerassi, C. and Williams, D. H.: Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. II, p.130, Holden-Day, San Francisco (1964)
16. Singh, H., Kapoor, V.K., Piozzi, F., Passannanti, S. and Paternostro, M.: *Phytochemistry*, **17**, 154 (1978)