

띠미로버섯 중 25-Epi, 3 α -Carboxyacetylquercinic Acid의 분리정제, 구조결정 및 생리활성

張康圭 · 閔泰鎮*

동국대학교 이과대학 화학과
(1999. 9. 3 접수)

Isolation, Structure Determination and Biological Activity of 25-Epi, 3 α -Carboxyacetylquercinic Acid in *Daedalea dickinsii*

Kang-Gyu Bae and Tae-Jin Min*

Dept. of Chemistry, Dongguk University, Seoul, 100-715, Korea
(Received September 3, 1999)

요 약. 띠미로버섯의 에탄올 추출물 중 25-Epi, 3 α -carboxyacetylquercinic acid의 두 구조, 항균활성 및 항암활성을 연구하였다. 화합물 1의 녹는점과 분자량은 각각 167~168°C, 572였고, 몰 흡광 계수는 208 nm에서 5,040이었다. 여러 분광학적 성질로부터 이는 24S, 25S, 3 α -carboxyacetylquercinic acid로 확인되었고, 곰팡이, 효모 및 세균들에 대한 항균활성과 항암활성(IC₅₀=64.5 μ M)이 있었다. 화합물 2의 녹는점, 분자량 및 몰 흡광 계수는 각각 233~235°C, 572 및 208 nm에서 5,080이었다. 이는 24S, 25R, 3 α -carboxyacetylquercinic acid로 확인되었고, 화합물 1과 서로 다른 항균활성을 보였다.

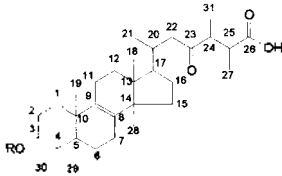
ABSTRACT. In order to develop bioactive substances, dried fruit body of *Daedalea dickinsii* collected from Taebak mountain was extracted with ethanol. The compounds 1 and 2 were purified by solvent extraction, silica gel column chromatography and recrystallization from the ethanol extracts. Melting point, molecular weight and molar extinction coefficient of the compound 1 were estimated to be 167~168°C, 572 and 5,040 at 208 nm. The structure of this compound 1 has been elucidated to be 24S, 25S, 3 α -carboxyacetylquercinic acid using spectroscopic properties. This compound showed antibiotic activities against fungi, yeasts and bacteria and it also showed anticancer activity (IC₅₀=64.5 μ M/ml) against Korean stomach cancer cell. Melting point, molecular weight and molar extinction coefficient of the compound 2 were estimated to be 233~235°C, 572 and 5,080 at 208 nm. The structure of this compound was elucidated to be 24S, 25R, 3 α -carboxyacetylquercinic acid. The compound 2 showed different antibiotic activities with the compound 1.

서 론

한국산 버섯은 현재 992종으로 분류¹되어 있으며, 그 중 식용 가능한 것이 100여종, 독버섯이 50여종으로 그중 맹독성을 가진 것이 20여종으로 보고^{2,3}되어 있으며, 항균활성을 제외한 여러가지 한방약⁴으로 사용하는 것이 35과 82속 162종으로 보고⁵되어 있으나, 그 이외의 버섯은 아직 확인된 바 없다. 그러나 그 성분과 약리작용에 대한 체계적이고 과학적인 연구는 최근에서야 활발하게 진행되고 있다.⁶

띠미로버섯(*Daedalea dickinsii*)은 만주름목 구멍장 이과 띠미로버섯 속의 일년생 갈색 목재부후균으로 주로 코르크질로 이루어져 있다. 이 버섯 중의 생리활성 물질에 관한 연구로는 trametoside, dehydrotumulosic acid, carbomethoxyacetylquercinic acid methylester, quercinic acid methylester, carbomethoxyacetylquercinic acid, carboxyacetylquercinic acid 및 polyporenic acid C 등이 보고^{7,8}되어 있다.

Inouye 등^{7,8}은 이 버섯으로부터 carboxyacetylquercinic acid를 분리정제하여 화학적 수식의 방법으로



3-OR C-24 C-25			R	3-OR C-24 C-25			R		
1.	α	S	S	-OCH ₂ COOH	2.	α	S	R	-OCH ₂ COOH
1a.	α	S	S	-OH	2a.	α	S	R	-OH
1b.	α	S	S	-OAc	2b.	α	S	R	-OAc

로 그 구조를 추정한 바는 있으나 이의 두 에피머를 순수히 분리한 상태로 그 구조를 밝힌 바는 없다.

본 연구에서는 락티모버섯 중의 생리활성 물질을 개발할 목적으로 그 자실체로부터 화합물 1과 2를 순수 분리정제하여 분광학적인 방법으로 이들 두 물질이 carboxyacetylquercinic acid의 에피머임을 규명한 다음 그에 대한 항균활성 및 항암활성을 측정하였기에 이에 보고한다.

실 험

기기.

NMR spectra는 CDCl₃와 CD₃OD의 혼합용매를 사용하였고 HMBC는 Varian 500 MHz. HMQC와 ¹H-COSY는 Varian 400 MHz. ¹H 및 ¹³C NMR은 Bruker 300 MHz 및 Varian 200 MHz NMR을 사용하였다. 이때 화학이동은 TMS를 사용하여 측정하였다. IR은 Bomem 100 spectrophotometer를 사용하여 KBr법으로 측정하였다. UV-visible spectra는 ethanol과 CHCl₃를 용매로 하여 HP8452 spectrophotometer를 사용하였으며, EI-mass는 VG Trio2000을 사용하였다. 그리고 원소분석은 Eager 200을 사용하여 C, H, N을 분석하였다. 화합물의 계통과 작용기 확인을 위한 발색반응은 Stahl의 방법¹²으로 확인하였으며, 구조확인에는 ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, ¹H COSY, HMQC 및 HMBC 등의 분광학적인 방법으로 확인하였다.

재료

락티모버섯은 강원도 태백산에서 채집 후 음건한 것을 사용하였으며 silica gel 60, n-hexane, chloroform, dichloromethane, acetonitrile 및 methanol은 Merck 제품을, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)는 Sigma 제품을, sabouraud배지 및 meuller-hinton배지는 Difco 제품을, 그리고 그 외의

시약들은 분석용 특급시약을 사용하였다.

에탄올 분획의 분리정제.

세절한 시료버섯 1 kg에 ethanol 16 L를 가하고 40°C에서 12시간 동안 2회 반복 추출하여 증발 농축한 후 이에 ethanol 500 mL를 가하여 불용성 백색침전물을 제거한 후 증발건조 하였다. 이 분획에 25% methanol 500 mL를 가하여 녹인 후 500 mL의 hexane과 500 mL의 butanol로 각각 순차적으로 추출하여 얻은 각 층을 증발농축 하였다. butanol층의 물질을 silica 겔 컬럼(5×60 cm)에 가하고 n-hexane : chloroform : methanol : ammonia water의 혼합용매(5 : 60 : 30 : 5, v/v)로 용출시켜 6개의 분획을 얻었다. 이들 중 V번 분획을 증발농축한 후 다시 같은 조건으로 silica 겔 컬럼크로마토그래피를 반복하여 화합물 1 및 2를 얻었다. 이들 두 물질을 각각 소량의 methanol과 chloroform의 혼합용매(1 : 1, v/v)에 녹인 후 acetonitrile로 재결정하여 순수한 두 물질을 얻었다. 이 두 물질의 정제도는 n-hexane : chloroform : methanol : ammonia water의 비를 달리한 혼합용매로 1차원 또는 2차원 TLC하여 각각 단일 spot을 얻어 확인하였다.

생리활성 검색.

항균활성검색은 항생물질 감수성 시험법^{13,14}에 따라 디스크 확산법으로 실시하였고, 최소억제농도(MIC)는 broth 희석법^{15,16}에 따라 측정하였다.

항암효과의 측정은 Mosmann 등¹⁶의 방법을 변형한 Bok 등¹⁷의 방법에 따라 MTT시험으로 측정하였다.

화합물 1(24S, 25S, 3 α -carboxyacetylquercinic acid), 옅은 노란색의 무정형 고체로, 녹는점 167~168 °C; UV(EtOH) λ_{max} : 208 nm(ϵ 5.040); IR(KBr) cm⁻¹: 3,400, 3,140, 2,940, 2,880, 1,735, 1,715, 1,580, 1,460, 1,375, 1,158, 1,035; FAB-MS(NI-LISMS): 571.4(M-H)⁻, requires 572.78; EI-MS(70eV) m/z (relative intensity): 528(12), 513(11), 453(49), 435(9), 369(13), 357(9), 309(66), 227(24), 187(81), 153(76), 121(96), 69(100); ¹³C NMR(CDCl₃+CD₃OD): 31.9(C-1), 24.1(C-2), 79.8(C-3), 37.8(C-4), 46.6(C-5), 19.1(C-6), 27.1(C-7), 135.4(C-8), 136.1(C-9), 38.0(C-10), 22.4(C-11), 31.9(C-12), 45.7(C-13), 51.1(C-14), 32.1(C-15), 29.4(C-16), 51.4(C-17), 16.3(C-18), 19.5(C-19), 33.7(C-20), 20.4(C-21), 48.8(C-22), 216.2(C-23), 49.8(C-24), 43.9(C-25), 181.5(C-26), 15.1(C-27), 24.7(C-28), 28.3(C-29),

22.4(C-30), 13.7(C-31), 170.6(C-1'), 49.2(C-2'), 173.7 (C-3'); ¹H NMR(CDCl₃+CD₃OD): 1.50(1H, ddd, *J* = 10.1, 4.5, 2.7 Hz, H α -1), 1.67(1H, d, *J* = 10.1, 7.4, 2.7 Hz, H β -1), 1.71(1H, ddd, *J* = 7.4, 4.5, 2.6 Hz, H α -2), 1.87(1H, ddd, *J* = 10.1, 7.4, 2.6 Hz, H β -2), 4.65(dd, *J* = 2.6, 2.6 Hz, H-3), 1.55(1H, brs, H-5), 1.68(1H, m, H α -6), 1.50(1H, dd like, H β -6), 2.07 (2H, brs, H α , β -7), 2.08(2H, d like, H α , β -11), 1.81 (1H, dd, *J* = 13.8, 7.7 Hz, H α -12), 1.68(1H, dd, *J* = 7.7, 3.6 Hz, H β -12), 1.25(1H, td, *J* = 9.2, 3.8 Hz, H α -15), 1.70(1H, td, *J* = 11.4, 10.8 Hz, H β -15), 1.33(1H, dt, *J* = 12.0, 10.1 Hz, H α -16), 1.95 (1H, dt, *J* = 14.1, 10.8 Hz, H β -16), 1.58(1H, m, H-17), 0.77(3H, s, H-18), 0.93(3H, s, H-19), 1.98 (1H, m, H-20), 0.87(d, *J* = 6.3 Hz, H-21), 2.35(1H, dd, *J* = 15.4, 12.7 Hz, H α -22), 2.61(1H, d, *J* = 15.4 Hz, H β -22), 2.61(1H, dq, *J* = 9.2, 7.2 Hz, H-24), 2.76(1H, dq, *J* = 9.2, 7.1 Hz, H-25), 1.12(3H, d, *J* = 7.1 Hz, H-27) 0.94(3H, s, H-28), 0.90(3H, s, H-29), 1.05(3H, s, H-30), 1.02(3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-31), 3.29(2H, s, H-2').

화합물 1a (24S, 25S, 3 α -quercinic acid). 화합물 1a(35 mg)를 5% 메탄올성 KOH로 가수분해하여 노란 색 무정형 고체상의 화합물 1a(25 mg)를 얻었다. 녹는점 218~222°C; UV(EtOH) λ max: 208 nm (ϵ 5,266); IR(KBr) cm⁻¹: 3,400, 2,950, 2,876, 1,732, 1,708, 1,578, 1,455, 1,371, 1,067; ¹H NMR(CDCl₃+CD₃OD) δ : 0.78(3H, s, H-18), 0.93(3H, s, H-19), 0.89(3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 1.10(3H, d, *J* = 7.1 Hz, H-27), 0.95(3H, s, H-28), 0.87(3H, s, H-29), 1.02(3H, s, H-30), 1.01(3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-31), 3.35(1H, dd, *J* = 2.8 Hz, 2.8 Hz, H-3), 2.60(1H, dq, *J* = 9.2 Hz, 7.1 Hz, H-24), 2.79(1H, dq, *J* = 9.2 Hz, 7.1 Hz, H-25).

화합물 1b(24S, 25S, 3 α -acetylquercinic acid). 화합물 1a(23 mg)을 pyridine 2 mL에 녹이고 2 mL의 ethyl acetate를 가하였다. 실온에서 1야 방치 후 혼합물을 물 10 mL로 희석하여 ethyl acetate로 추출하였다. 상층을 무수 MgSO₄로 탈수시키고 증발 건조시켜 황색 시럽상의 아세틸화된 화합물 1b(20 mg)을 얻었다. 녹는점 106~110°C; UV(CHCl₃) λ max: 258 nm(ϵ 4.515); IR(KBr) cm⁻¹: 3,161, 2,960, 2,878, 1,733, 1,712, 1,457, 1,375, 1,035; ¹H NMR(CDCl₃+CD₃OD)

δ : 0.72(3H, s, H-18), 0.91(3H, s, H-19), 0.88(3H, d, *J* = 6.3 Hz, H-21), 1.11(3H, d, *J* = 7.1 Hz, H-27), 0.92(3H, s, H-28), 0.85(3H, s, H-29), 0.99(3H, s, H-30), 0.97(3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-31), 4.65(1H, dd, *J* = 2.6 Hz, 2.6 Hz, H-3), 2.61(1H, dq, *J* = 9.2 Hz, 7.2 Hz, H-24), 2.78(1H, dq, *J* = 9.2 Hz, 7.1 Hz, H-25), 2.06(3H, s, Ac).

화합물 2(24S, 25R, 3 α -carboxyacetylquercinic acid). 백색 무정형 고체로, 녹는점 233~235°C; UV (EtOH) λ max: 208 nm (ϵ 5,080); IR(KBr) cm⁻¹: 3,400, 3,161, 2,952, 2,876, 1,735, 1,712, 1,458, 1,376, 1,207, 1,035; FAB-MS(NI-LISMS): 571.4(M-H)⁺, requires 572.78; EI-MS(70eV) *m/z*(relative intensity): 528(11), 513(9), 453(48), 435(8), 369(18), 357(11), 309(93), 227(27), 187(100), 153(92), 121 (59); ¹³C NMR(CDCl₃+CD₃OD): 31.8(C-1), 24.0(C-2), 79.9(C-3), 37.7(C-4), 46.4(C-5), 19.0(C-6), 27.0 (C-7), 135.2(C-8), 135.9(C-9), 38.0(C-10), 21.9(C-11), 32.0(C-12), 45.6(C-13), 50.7(C-14), 32.0(C-15), 29.2 (C-16), 51.3(C-17), 16.3(C-18), 19.5(C-19), 33.9(C-20), 20.5(C-21), 48.8(C-22), 215.8(C-23), 51.0(C-24), 44.5(C-25), 179.7(C-26), 15.6(C-27), 24.7(C-28), 28.2 (C-29), 22.3(C-30), 16.0(C-31), 170.1(C-1'), 49.2(C-2'), 173.0(C-3'); ¹H NMR(CDCl₃+CD₃OD): 1.56(1H, ddd, *J* = 10.1, 5.2, 2.7 Hz, H α -1), 1.63(1H, d, *J* = 10.1, 7.4, 2.7 Hz, H β -1), 1.74(1H, ddd, *J* = 7.4, 5.2, 2.6 Hz, H α -2), 1.90(1H, ddd, *J* = 10.1, 7.4, 2.6 Hz, H β -2), 4.65(dd, *J* = 2.6, 2.6 Hz, H-3), 1.57(1H, brs, H-5), 1.58(1H, m, H α -6), 1.53(1H, dd like, H β -6), 2.00(2H, brs, H α , β -7), 2.09(2H, d like, H α , β -11), 1.80(1H, dd, *J* = 15.5, 12.2 Hz, H α -12), 1.74 (1H, dd, *J* = 14.2, 12.2 Hz, H β -12), 1.25(1H, td, *J* = 11.5, 10.8 Hz, H α -15), 1.64(1H, td, *J* = 11.5, 7.7 Hz, H β -15), 1.32(1H, dt, *J* = 12.3, 9.6 Hz, H α -16), 1.95(1H, dt, *J* = 14.1, 10.8 Hz, H β -16), 1.64(1H, m, H-17), 0.78(3H, s, H-18), 0.94(3H, s, H-19), 2.00 (1H, m, H-20), 0.93(d, *J* = 6.3 Hz, H-21), 2.28(1H, dd, *J* = 16.1, 9.7 Hz, H α -22), 2.57(1H, d, *J* = 16.1 Hz, H β -22), 2.60(1H, dq, *J* = 11.3, 2.6 Hz, H-24), 2.79 (1H, dt, *J* = 11.3, 2.6 Hz, H-25), 1.12(3H, d, *J* = 2.6 Hz, H-27) 0.95(3H, s, H-28), 0.91(3H, s, H-29), 1.04(3H, s, H-30), 1.08(3H, d, *J* = 2.6 Hz, H-31).

3.31(2H, s, H-2').

화합물 2a (24S, 25R, 3 α -quercinic acid). 화합물 2 (35 mg)를 화합물 1a를 얻은 방법에 따라 가수분해하여 얻은 노란색 무정형 고체 화합물 2a(24 mg)을 얻었다. 녹는점 204~207°C; UV(EtOH) λ_{max} : 208 nm(ϵ 5,355); IR(KBr) cm^{-1} : 3,382, 2,965, 2,949, 2,876, 1,735, 1,711, 1,458, 1,396, 1,298, 1,035; ^1H NMR($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) δ : 0.78(3H, s, H-18), 0.91(3H, s, H-19), 0.93(3H, d, $J=6.3$ Hz, H-21), 1.08(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-27), 0.95(3H, s, H-28), 0.87(3H, s, H-29), 1.02(3H, s, H-30), 1.05(3H, d, $J=6.7$ Hz, H-31), 3.35(1H, dd, $J=2.8$ Hz, 2.8 Hz, H-3), 2.59(1H, dq, $J=8.1$ Hz, 6.7 Hz, H-24), 2.78(1H, dq, $J=8.1$ Hz, 6.6 Hz, H-25).

화합물 2b (24S, 25R, 3 α -acetylquercinic acid). 화합물 2a(23 mg)를 취하여 화합물 1b와 같은 방법으로 얻은 노란색 사립상의 아세틸화된 화합물 2b(19 mg)을 얻었다. 녹는점 112~116°C; UV(CHCl_3) λ_{max} : 258 nm(ϵ 4,606); IR(KBr) cm^{-1} : 3,148, 2,963, 2,947, 2,875, 1,736, 1,701, 1,460, 1,376, 1,155, 1,035; ^1H NMR(CDCl_3) δ : 0.72(3H, s, H-18), 0.89(3H, s, H-19), 0.91(3H, d, $J=6.2$ Hz, H-21), 1.16(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-27), 0.92(3H, s, H-28), 0.86(3H, s, H-29), 0.99(3H, s, H-30), 1.09(3H, d, $J=7.0$ Hz, H-31).

4.66(1H, dd, $J=2.6$ Hz, 2.6 Hz, H-3), 2.61(1H, dq, $J=8.4$ Hz, 7.0 Hz, H-24), 2.78(1H, dq, $J=8.4$ Hz, 6.6 Hz, H-25), 2.07(3H, s, Ac).

결과 및 고찰

화합물 1의 구조.

화합물 1은 얻은 노란색의 무정형 고체였다. 또 녹는점은 167~168°C, 분자량은 572 그리고 208 nm에서 물 흡광 계수(ϵ)는 5,040이었다. 이 물질의 제통과 작용기 확인을 위한 발색반응을 실시한 결과 황산, 요오드 증기, 아니스알데히드-황산, 염화 제2철, 염화안티몬(III)-식초산, 피크르산-과염소산, 텡스텐인산 및 α -나프톨-황산 시약에는 양성반응을 보였으나 닐히드린과 Dragendorff 시약에는 음성반응을 보여 이 물질은 트리테르페노이드 또는 스테로이드계 유도체로 추정되었다.

^1H NMR로 부터 모두 8개의 methyl기, 즉 5개의 methyl singlet과 3개의 methyl doublet을 확인하였고, δ 3.29와 δ 4.65에서 oxygenated methylene과 methine의 수소와 δ 2.61 및 δ 2.76의 methine 수소가 관찰되어 이 화합물은 lanostene의 골격으로 된 물질임을 알 수 있었다.

^{13}C NMR 및 DEPT(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) spectra로 부터 총 34개의 탄소

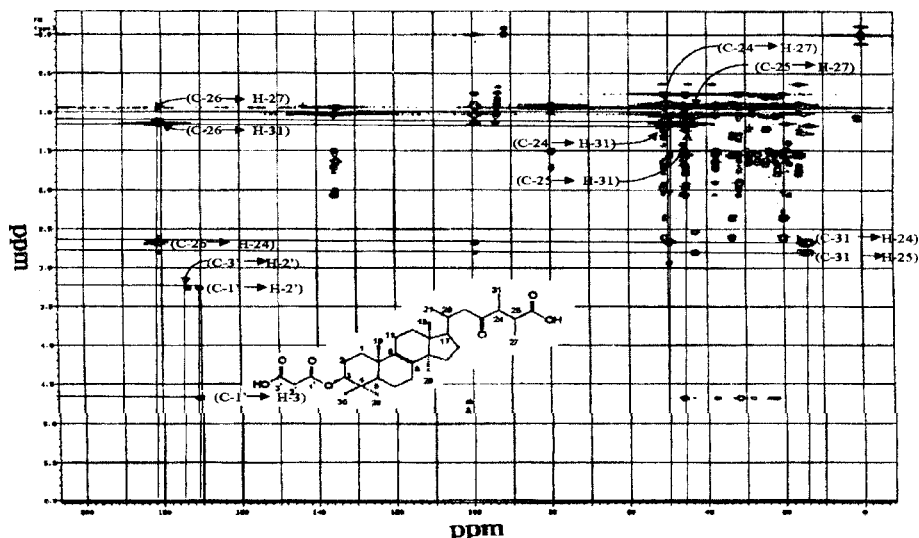


Fig. 1. HMBC spectrum of compound 1(24S, 25S, 3 α -carboxyacetylquercinic acid) purified from *Daedalea dickinsii*. Solvent ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$).

원자가 관찰되어 4개의 카르보닐 탄소, 6개의 4차 탄소, 6개의 methine, 10개의 methylene 그리고 8개의 methyl 탄소원자를 확인하였다. 이들 중 δ 135.4와 δ 136.1에서 두개의 4차 탄소원자가 거의 유사한 화학이동을 보여 C-8과 C-9 사이에 이중결합이 존재함을 확인하였다. 그리고 HMQC(Heteronuclear Multiple Quantum Correlation)로 확인한 모든 탄소와 수소원자 간의 스핀결합은 실험부에 표시한 data와 같다.

^1H - ^1H COSY spectra로부터 δ 4.65의 H-3와 스핀결합한 δ 1.71 및 δ 1.87의 H-2 α 와 H-2 β 수소의 위치 그리고 이들 2개 수소와 스핀결합한 δ 1.50 및 δ 1.67의 H-1 α 와 H-1 β 의 2개 수소를 확인하였다. δ 0.87의 H-21과 스핀결합한 δ 1.98의 H-20과, 또 H-20과 스핀결합한 δ 2.35와 δ 2.61에서 H-22의 2개 수소를 확인하였으며, δ 1.12의 H-27과 스핀결합한 δ 2.61의 H-24 또 H-24와 스핀결합한 δ 2.76의 H-25, 그리고 H-25와 스핀결합한 δ 1.02의 H-31의 위치를 확인하였다. δ 2.07의 H-7 α 및 H-7 β 와 스핀결합한 δ 1.68 및 δ 1.50의 H-6 α 와 H-6 β 위치의 2개 수소, 그리고 H-6 β 와 스핀결합한 δ 1.55의 H-5 위치의 한개 수소를 확인하였다. 또한 δ 1.33의 H-16 α 와 δ 1.25의 H-15 α 의 상관관계로부터 δ 1.58의 H-17와 δ 1.95의 H-16 β 그리고 δ 1.70의 H-15 β 의 위치를 확인하였다.

HMBC(Heteronuclear Multiple Bond Coherence) spectra(Fig. 1 및 Fig. 2)로부터 δ 3.29(2H, s)의 수소가 δ 170.6와 δ 173.7의 탄소원자들과 원거리 스핀결합을 한 것으로부터 카르복시아세틸기의 존재를 알 수 있었으며, δ 4.65(1H, dd, $J=2.6, 2.6$)의 수소는 δ 170.6, δ 37.8, δ 46.6 및 δ 22.4의 탄소원자들과, δ 0.90(1H, s)의 수소는 δ 37.8, δ 46.6 및 δ 28.3의 탄소원자들과 각각 원거리 스핀결합을 하고 있음을 보여 카르복시아세틸기가 C-3에 연결되어 있음을 알았다. δ 1.05(3H, s)의 수소와 δ 31.9, δ 38.0, δ 46.6 및 δ 136.1의 탄소원자들이 원거리 스핀결합을 함으로써 C-9 주위의 구조를 확인하였고, δ 0.94(3H, s)의 수소와 δ 45.7, δ 51.1 및 δ 135.4의 탄소원자들과 원거리 스핀결합을 함으로써 C-8 주위의 구조와 C-8과 C-9사이에 이중결합이 존재함을 알 수 있었다. δ 0.77(3H, s)의 수소는 δ 31.9 및 δ 45.7의 탄소원자들과, δ 0.87(3H, d, $J=6.3$)의 수소는 δ 51.1, δ 51.4, δ 16.3, δ 33.7 및 δ 48.8의 탄소원자들과 그리고 δ 1.98(1H, m)의 수소는 δ 43.9의 탄소원자와 각각 원거리 스핀결합을 하고 있음을 알 수

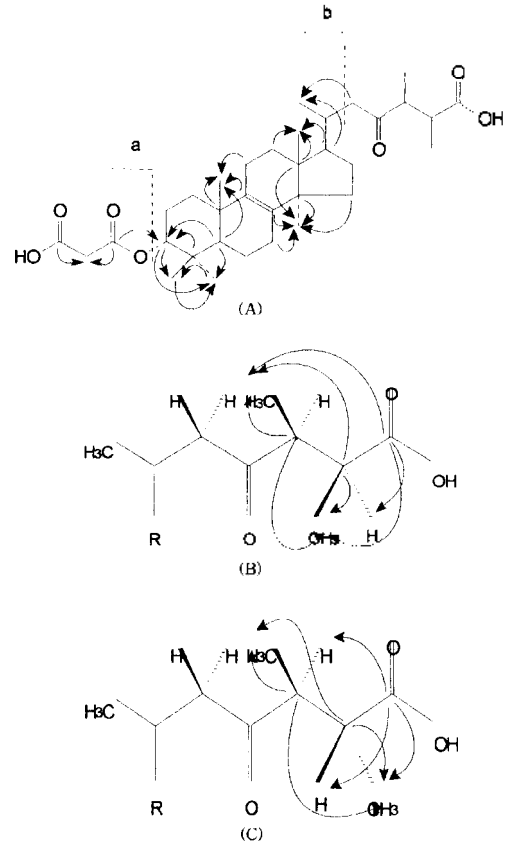


Fig. 2. HMBC key correlations (C→H) of 3 α -carboxyacetylquercinic acid from *Daedalea dickinsii*. (A) Lanostene backbone (B) C-17 side chain of 24S, 25S 3 α -carboxyacetylquercinic acid(compound 1) (C) C-17 side chain of 24S, 25R 3 α -carboxyacetylquercinic acid(compound 2).

있고 C-18와 C-21의 주위 구조를 확인하였다. C-17에 결합된 결사슬의 구조는 δ 1.02(3H, d, $J=7.2$)의 수소가 δ 43.9, δ 49.8 및 δ 181.5의 탄소원자들과 그리고 δ 1.23(3H, d, $J=7.1$)의 수소가 δ 43.9, δ 49.8 및 δ 181.5의 탄소원자들과 원거리 스핀결합을 하고, 또 δ 2.61(1H, dq, $J=9.2, 7.2$)와 δ 2.76(1H, dq, $J=9.2, 7.1$)의 수소원자들은 단지 δ 2.61의 수소만이 δ 181.5의 탄소원자와 원거리 스핀결합을 하고 있음을 보여 이를 분자 모델로 확인한 결과 24S 및 25S 구조를 지닌 물질임을 알 수 있었다.

C-3의 카르복시아세틸기의 입체배열을 확인하기 위하여 화합물 1을 5% 메탄올성 KOH로 가수분해한 화합물 1a에 대한 ^1H NMR spectra에서 δ 4.65의 H-3의 peak가 δ 3.34로 이동하였으며, δ 3.29의 H-2'의

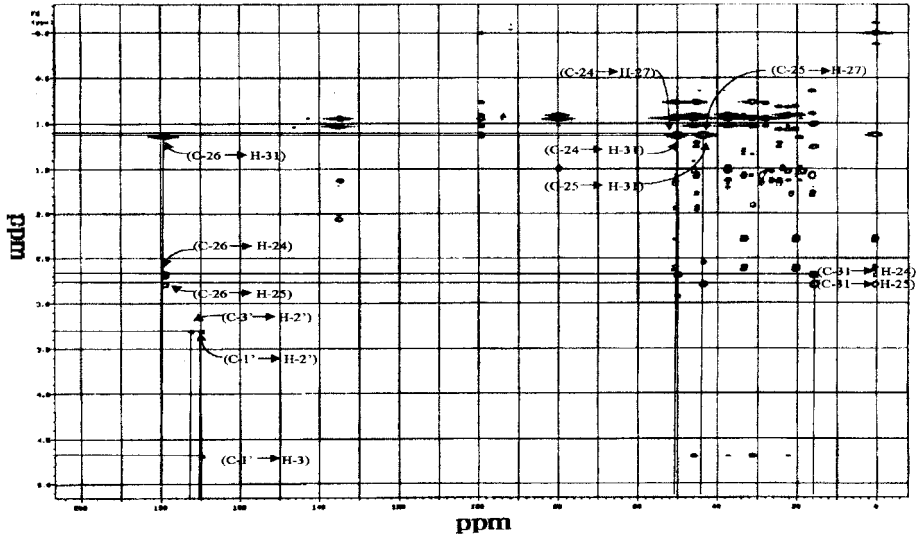


Fig. 3. HMBC spectrum of compound 2(24S, 25R, 3 α -carboxyacetylquercinic acid) purified from *Dacrydium dickinsii*. Solvent (CDCl₃+CD₃OD).

peak가 사라져 카르복시아세틸기가 제거되고 C-3에 OH기가 존재함을 확인하였다. Adam 등¹⁰⁾은 3 α -알코올 유도체들의 H-3의 화학이동은 δ 3.35~3.40이며 3 β -알코올 유도체들의 H-3의 화학이동은 δ 3.22~3.25의 값임을 보고 한 바 있다. 이로서 화합물 1은 24S, 25S, 3 α -carboxyacetylquercinic acid임을 알았다.

화합물 1b(acetylquercinic acid, C₂₁H₃₂O₈)는 ¹H NMR spectra에서 δ 3.34의 H-3의 peak가 δ 4.65로 이동하였고, δ 2.06의 아세틸기의 peak가 나타나 C-3의 OH기가 아세틸기로 치환된 acetylquercinic acid의 생성을 확인하였으며 IR spectra로 이를 재확인하였다.

FAB-mass(NI-LJMS)로 측정된 화합물 1의 (M-H)는 571.4로서 그 분자량은 572.4였으며, EI-mass로 측정된 m/z 528은 M-CO₂, m/z 468은 M-a, m/z 453은 M-a-CH₃, m/z 324는 M-a-b, m/z 309는 M-a-b-CH₃로 확인되어 이 물질의 구조를 재확인하였다 (Fig. 2).

화합물 2의 구조.

화합물 2는 백색의 무정형 고체였으며 위와 같은 발색반응을 통하여 이 물질도 lanostene계 화합물로 추정되었으며 녹는점 233~235°C, 분자량은 572 그리고 208 nm에서의 몰 흡광 계수(ϵ)는 5.080이었다.

이 물질의 ¹H NMR spectra로부터 모두 8개의 methyl기 즉 5개의 methyl singlet과 3개의 methyl doublet를 확인하였고, δ 3.31와 δ 4.65에서 oxygenated

methylene과 methine의 수소, δ 2.63와 δ 2.79에서 methine 수소의 존재, 그리고 ¹³C NMR spectra로부터 총 34개의 탄소원자 중 4개의 카르보닐 탄소, 6개의 4차 탄소, 6개의 methine, 10개의 methylene 그리고 8개의 methyl 탄소원자가 존재함을 알았다. 이들 중 δ 135.2와 δ 135.9에서 두개의 4차 탄소원자가 거의 유사한 화학이동을 보여 화합물 1과 거의 유사한 분광학적 특성을 보였다. 그러나 H-27와 H-31의 methyl기의 화학이동이 화합물 1에 비하여 δ 1.23에서 δ 1.11로 δ 1.02에서 δ 1.08로 각각 이동함을 나타내었으며, 그리고 C-27과 C-31의 화학이동이 화합물 1에 비하여 δ 15.1에서 δ 15.6으로, δ 13.7에서 δ 16.0으로 비교적 큰 차를 나타내어 화합물 1의 에피머일 것으로 추정하였다. 이는 실험부에 표시한 data와 같다.

또한 이 물질의 HMQC 및 ¹H COSY spectra도 화합물 1과 거의 유사함을 보였다.

HMBC spectra(Fig. 2 및 Fig. 3)로부터 C-17에 결합된 결사슬의 구조는 δ 1.08(3H, d, J=7.0)의 수소가 δ 44.5와 δ 51.0의 탄소원자들과, δ 1.12(3H, d, J=6.9)의 수소가 δ 44.5, δ 51.0 및 δ 179.7의 탄소원자들과 원거리 스핀결합을 하고 있으며, δ 2.60(1H, dq, J=8.4, 7.0)과 δ 2.79(1H, dq, J=8.4, 6.9)의 수소원자들은 모두 δ 179.7의 탄소원자와 원거리 스핀결합을 하고 있는 점 등이 화합물 1과 다르며, 이를 분자 모델로 확인한 결과 24S 및 25R의 구조를 지닌 물질

임을 알 수 있었다.

C-3의 카르복시아세틸기의 입체배열을 전술한 화합물 1과 같은 방법으로 확인한 결과 화합물 2a의 ¹H NMR spectra에서 δ 4.65의 H-3의 peak가 δ 3.34로 이동하였고, δ 3.31의 H-2의 peak가 사라져 카르복시아세틸기가 제거되고 C-3에 OH기가 생성됨으로서 화합물 2는 24S, 25R, 3 α -carboxyacetylquercinic acid임을 알았다.

화합물 2b(acetylquercinic acid, C₃₃H₅₂O₄)는 ¹H NMR spectra에서 δ 3.34의 H-3의 peak가 δ 4.65로 이동하고 δ 2.07의 아세틸기의 peak가 나타나 C-3의 OH기가 아세틸기로 치환된 acetylquercinic acid가 생성되었음을 확인하였으며 이를 IR로 재확인하였다. 화합물 2의 mass분석치는 역시 화합물 1과 동일하게 나타나 두 물질이 C-25 에피머임을 재확인하였다.

생리활성.

정제된 3 α -carboxyacetylquercinic acid의 두 화합물에 대한 항균 및 항암활성은 아직 보고된 바 없으며, 화합물 1에 대한 항균활성을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 화합물 1은 뇌막염을 유발¹⁾하는 *Cryptococcus neoformance*, candidiasis를 유발¹⁾하는 *Candida albicans* 등의 효모와 백선을 유발¹⁾하는 *Microsporium canis*, 황선을 유발¹⁾하는 *Trichosporon begelii*, aspergillosis를 유발¹⁾하는 *Aspergillus versicolor* 등의 곰팡이, 폐

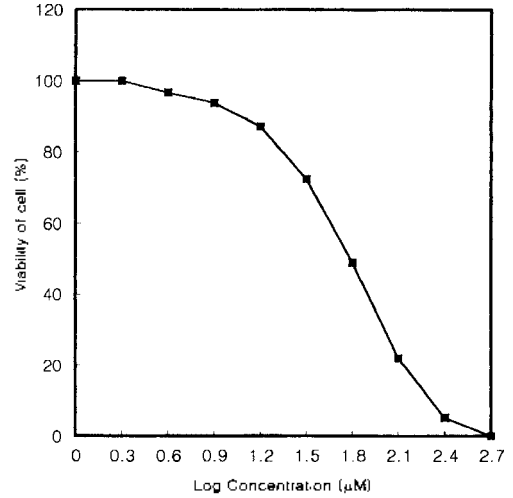


Fig. 4. Anticancer activity of compound 1 (24S, 25S, 3 α -carboxyacetylquercinic acid) purified from *Daedalea dickinsii*. Cell line was used SNU-1 (Korean stomach cancer cells).

혈증을 유발¹⁾하는 *Pseudomonas aeruginosa*, 폐렴을 유발¹⁾하는 *Proteus mirabilis*, 설사를 유발¹⁾하는 *Providencia rettigeri*, 간균속의 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* 및 *Bacillus licheniformis*, 뇌막염 등을 유발¹⁾하는 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* 및 *Staphylococcus pyogenes* 등의 세균에 대하여 폭넓은 항균활성을 나타내었다. 그리고 효모와 세

Table 1. Antibiotic activities of compound 1 and 2 purified from *Daedalea dickinsii*.

Strain	Diameter of Inhibition(mm)		Weight of Antibiotics per disc(μg)
	Compound 1	Compound 2	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	12.2 ^a	11	500
<i>Candida albicans</i>	13.5	21	"
<i>Trichosporon begelii</i>	16.5	15	"
<i>Microsporium canis</i>	11.5	17	"
<i>Aspergillus versicolor</i>	10.5	—	"
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	14	"
<i>Serratia marcescens</i>	9	—	"
<i>Proteus mirabilis</i>	11	—	"
<i>Providencia rettigeri</i>	15	12	"
<i>Escherichia coli</i>	9	—	"
<i>Bacillus cereus</i>	10	—	"
<i>Bacillus licheniformis</i>	10	10	"
<i>Bacillus subtilis</i>	10	—	"
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	12	"
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	—	"
<i>Staphylococcus pyogenes</i>	13	—	"

^aDisc diameter; 8mm. —; not tested.

균들 중에서 항균활성이 가장 큰 *T. beigelii*와 *S. epidermidis*에 대한 이 화합물의 MIC값은 각각 34.9 μ M이었다.

화합물 1에 대한 위암세포의 항암 효과를 측정된 결과는 Fig. 4와 같으며 그의 IC₅₀ 값은 64.5 μ M이었다.

화합물 2의 항균활성을 검색한 결과는 Table 1과 같으며 화합물 1과 항균활성이 차이를 보이는 것은 입체구조상의 차이에 기인하는 것으로 추정되나 이는 좀 더 상세한 연구가 필요 할 것으로 사려된다.

이들 화합물의 생리활성 부위를 확인하기 위하여 C-3 위치의 카르복시아세틸기를 제거한 화합물 1a와 2a의 항균활성을 검색한 결과 화합물 1a와 2a가 서로 다른 값을 보였지만 다 같이 항균활성을 나타내는 것으로 보아 그 활성부위는 C-17과 결합한 잔기 일 것으로 추정된다.

결 론

1. 락티로버섯 중 25-Epi, 3 α -carboxyacetylquercinic acid의 두 구조(1 및 2)는 24S, 25S 및 24S, 25R, 3 α -carboxyacetylquercinic acid의 에피머였다.

2. 화합물 1의 녹는점, 분자량 및 물 흡광 계수는 각각 167-168°C, 572 및 208 nm에서 5,040이었고, 이는 뇌막염을 유발하는 *C. neoformance* 등의 효모와 백선을 유발하는 *M. canis* 등의 곰팡이 및 폐혈증을 유발하는 *P. aeruginosa* 등의 세균에 대한 항균활성을 보였고, 위암세포에 대한 항암 효과는 IC₅₀ 값이 64.5 μ M이었다.

3. 화합물 2의 녹는점, 분자량 및 물 흡광계수는 각각 233-235°C, 572 및 208 nm에서 5,080이었고, 이는 화합물 1과 서로 다른 항균활성을 보였다.

본 연구는 1997년도 교육부 기초과학연구소지원 학

술연구조성비(BSRI-97-3445)에 의하여 수행되었으며 이에 감사한다.

인 용 문 헌

1. Jung, H. S. *The Korean Society of Mycology News Letter* **1993**, 5(1), 29.
2. Lee, T. S. *Kor. J. Mycol.* **1990**, 18(4), 233.
3. Park, W. H. *The Korean Mushrooms*, Kyohaksa, Seoul, **1991**, p23.
4. Ahn, D. K. *Kor. J. Mycol.* **1992**, 20(2), 154.
5. Hu, J., *Dongheibogam*, Namsandang, Seoul, 1981, p 1178.
6. Mizuno, T. *Mushroom Chemistry and Biochemistry*, Japan, **1992** p14.
7. Inouye, H.; Tokura, K. Z. *Naturforsch* **1970**, 25b, 1194.
8. Inouye, H.; Tokura, K.; Hayashi, T. *Yakugaku Zasshi* **1972**, 92(5), 621.
9. Inouye, H.; Tokura, T., *Yakugaku Zasshi* **1972**, 92(7), 859.
10. Adam, H. K.; Bryce, T. A.; Campbell, I. M.; McCor-kindale, N. J. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 16, 1461.
11. Hwang, S. C., *Pathogenic Microbiology*, Shinkwang Press: Seoul, 1985, p232.
12. Stahl, E. *Thin-Layer Chromatography*; 2nd Ed.; Allen and Unwin, London, 1972.
13. Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J.; Turck, M. *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, 45(4), 439.
14. Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 3rd Ed., Williams & Wilkins Press: Baltimore, 1991, p100.
15. Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P.; Winn, W. *Diagonostic Microbiology*, 4th Ed.; Lippincott Co. Press: Philadelphia, 1992, p659.
16. Mosmann, T. J. *Immunol. Methods* **1983**, 65, 55.
17. Bok, J. W.; Lee, K. Y.; Lee, S. K.; Kim, B. K. *Kor. Biochem. J.* **1994**, 27(2), 149.
18. Inouye, H.; Tokura, K.; Hayashi, T. *Tetrahedron Lett. (London)* **1970**, 2811.