

만병초의 세포독성 성분

장기욱 · 최상운* · 이강노#

성균관대학교 약학대학 천연물 약품 화학 연구실, *한국화학연구소
(Received May 23, 2005; Reivsed June 13, 2005)

Cytotoxic Constituents of *Rhododendron brachycarpum*

Gi Uk Jang, Sang Un Choi* and Kang Ro Lee#

Natural Products Laboratory, College of Pharmacy, SungKyunKwan University Suwon 440-746, Korea

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 136-702, Korea

Abstract — From the methanol extract of *Rhododendron brachycarpum* four triterpenes, three phenylpropanes and a diterpene alkaloid were isolated. Their structures were identified as glutinol (1), 3 β -hydroxyurs-12-ene (2), β -sitosterol (3), (E)-*p*-hydroxycinnamic acid hexadecylester (4), (-)-rhododendrol (5), (+)-rhododendrol (6), 3 β -hydroxyurs-12-en-28-oic acid (7) and grayanotoxin I (8) by spectroscopic methods. Compound 8 showed moderate cytotoxicity against five cultured human tumor cell lines with ED₅₀ values of 3.21~4.05 μ g/ml. The other compounds were of marginal activity against the tested cell lines.

Keywords □ *Rhododendron brachycarpum*, cytotoxicity

만병초(*Rhododendron brachycarpum* G.Don)는 강원도 이북 지방 및 일본 등지에 자생하는 진달래과(Ericaceae) 식물로서 민간에서는 고혈압, 저혈압, 당뇨병, 두통, 생리불순, 간염, 간경화, 축농증, 심부전증 및 신장병등의 여러 질환에 다양하게 이용하였다.¹⁾

국내에서 자생하는 동속 식물은 *Rhododendron aureum* Geogi, *Rhododendron brachycarpum* G.Don var. *roseum* Koidz 등 3종이 있으며, 문헌조사결과 본 식물로부터는 flavonoid, triterpenoid, diterpenoid 및 alkaloid 등이 분리 보고 되었다.²⁻⁴⁾

본 연구에서는 만병초의 MeOH 추출물로부터 *n*-hexane, methylene chloride, ethyl acetate 및 *n*-butanol에 의한 용매 분획 후 *n*-hexane 및 methylene chloride 분획에서 4종의 triterpenes, 3종의 phenylpropanoids 및 1종의 diterpene alkaloid를 분리하여 이화학적 성상 및 기기분석적 방법으로 구조를 규명하였으며, 분리된 각 물질을 5종의 암세포에 대하여 세포독성 실험을 수행하였다.

실험 방법

실험재료

본 실험에 사용된 만병초(*Rhododendron brachycarpum* G.Don)는 2003년 7월 18일 강원도 설악산 백담사 마등령 인근에서 채집하여 정확히 감정하고, 전초를 음지에서 건조한 후 세절하여 사용하였다.

기기 및 시약

용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. 비선광도 [α]는 JASCO P-1020 polarimeter를 사용하여 측정하였다. ¹H- 및 ¹³C-NMR 스펙트럼은 Varian VXR-500으로 측정하였다. EI-MS spectrum과 FAB-MS spectrum은 VG70-VSEG(VG Analytical, UK)를 사용하였고, nitrobenzyl alcohol을 matrix로 사용하였다. Open column chromatography는 Si gel 60(Merck, 70~230, 230~400 mesh ASTM Art. 7734과 9385, Merck)을 사용하였으며, LPLC는 Lichroprep Si 60 Lobar[®]-A(Merck)와 Lichroprep RP-18 Lobar[®]-A(Merck, 40~63 μ m)를 사용하였고, molecular sieve column chromatography용 packing 물질은 Sephadex LH-

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 031-290-7710 (팩스) 031-292-8800
(E-mail) krlee@skku.ac.kr

20(Pharmacia)을 사용하였다. LPLC pump는 Duramat 80 (Prominent)을 사용하였다. Preparative HPLC는 refractive index detector와 HAILSIL 100 silica 5 μ m(length : 250 mm, I.D 10 mm) column이 설치된 Gilson LC 306 dual pump 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel $^{60}\text{F}_{254}$ precoated plate(Art.552, Merck)를 사용하였고, 추출 및 column chromatography용 용매는 1급 시약을, 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

추출 및 분획

실온에서 건조된 약 2 kg의 세절한 지상부를 MeOH 용액으로 상온에서 냉침(5회) 하였다. 추출액을 감압 농축하여 MeOH 엑스 250 g를 얻었으며, 이를 증류수에 현탁시킨 후 *n*-hexane, methylene chloride(CH_2Cl_2), ethyl acetate(EtOAc) 및 *n*-butanol (BuOH)로 용매 분획 하여 *n*-hexane(40 g) 및 methylene chloride (30 g) 분획으로부터 화합물 8종을 분리하였다.

화학물의 분리

n-Hexane 분획(40 g)을 silica gel column chromatography (hexane : EtOAc=2 : 1)를 실시하여 6개의 분획(H-1~H-6)으로 나누었으며, H-2 분획(9 g)을 silica gel column chromatography (hexane : EtOAc=7 : 1, hexane : EtOAc=12 : 1)를 한 후 RP silica gel Lobar-A(MeOH)를 이용하여 H-21(100 mg) 및 H-22(60 mg)을 얻었다. 이를 각각 HPLC(hexane : EtOAc=12 : 1)로 정제하여 흰색 분말상의 화합물 1(60 mg)과 흰색 분말상의 화합물 2(40 mg)를 얻었다. H-3 분획(4 g) 중 일부를 취하여 (0.5 g) silica gel column chromatography(hexane : EtOAc=4 : 1, hexane : C : M=7 : 5 : 0.5)를 한 후 HPLC(hexane : EtOAc=5 : 1)로 정제하여 흰색 분말상의 화합물 3(40 mg)를 얻었다.

Methylene chloride 분획(30 g)을 silica gel column chromatography(hexane : EtOAc=3 : 1)를 시행하여 7개의 분획(M1~M7)으로 나누었다. M3 분획(1.2 g)을 silica gel chromatography (hexane : EtOAc=5 : 1)을 한 후 silica Lobar-A(hexane : EtOAc=7 : 1)를 이용하여 M3A(15 mg)을 얻었다. 이를 HPLC(hexane : EtOAc=6 : 1)로 정제하여 흰색 분말상의 화합물 4(5 mg)를 얻었다. M4 분획(3 g)을 silica gel column chromatography(hexane : EtOAc=3 : 1)를 한 후 Sephadex LH-20 column(methylene chloride : MeOH=1 : 1)과 silica gel Lobar-A(chloroform : MeOH=40 : 1)를 이용하여 M4A(30 mg)을 얻었다. 이를 HPLC(hexane : EtOAc=2 : 1)로 정제하여 무색 오일상의 화합물 5(7 mg)를 얻었다. M5 분획(5 g) 중 일부를 취하여(1.5 g) silica gel column chromatography(chloroform : MeOH=40 : 1)를 한 후 Sephadex LH-20 column(methylene chloride : MeOH=1 : 1)으로 반복하여 무색 오일상의 화합물 6(70 mg)을 얻었다. M7 분획(8 g) 중 일부를 취하여(2 g) silica gel column chromatography(chloroform :

MeOH=20 : 1)를 한 후 Sephadex LH-20 column(methylene chloride : MeOH=1 : 1)과 silica gel Lobar-A(hexane : EtOAc=2 : 1)으로 반복 정제하여 M7A(40 mg)을 얻었다. 이를 Sep-pak column(chloroform)으로 정제하여 흰색 분말상의 화합물 7(27 mg)을 얻었다. M7 분획(8 g)을 silica gel column chromatography(chloroform : MeOH=20 : 1)를 한 후 Sephadex LH-20 column(methylene chloride : MeOH=1 : 1)과 RP silica gel Lobar-A(30% MeOH in H_2O)를 반복하여 M-7A(200 mg)을 얻었다. 이를 Sep-pak column(MeOH)으로 정제하여 흰색 분말상의 화합물 8(150 mg)을 얻었다.

화합물 1 - 백색 분말, mp : 268°C, EI-MS m/z(rel. int.): 426 (M^+ , 43), 411(10), 393(7), 286(5), 274(100), $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500 \text{ MHz}, \delta \text{ ppm})$: 5.65(1H, d, $J=6.0 \text{ Hz}$, H-6), 3.48(1H, t, $J=2.9 \text{ Hz}$, H-3), 2.03~1.96(2H, m), 1.92~1.83(3H, m), 1.68(1H, m), 1.55(10H, br.m), 1.49(1H, dd, $J=6.0 \text{ Hz}$, 2.5 Hz), 1.46(1H, br.t), 1.43(1H, m), 1.41(1H, d, $J=4.0 \text{ Hz}$), 1.38(2H, dd, $J=7.8 \text{ Hz}$, 4.0 Hz), 1.34(1H, t, $J=6.0 \text{ Hz}$), 1.27(4H, m), 1.18(3H, s), 1.16(3H, s), 1.11(3H, s), 1.06(3H, s), 1.02(3H, s), 1.01(3H, d, $J=7.8 \text{ Hz}$), 1.00(3H, s), 0.97(3H, s), 0.87(3H, s), $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 125 \text{ MHz}, \delta \text{ ppm})$: 141.8(C-5), 122.2(C-6), 76.5(C-3), 49.9(C-8), 47.6(C-8), 43.3(C-18), 41.6(C-9), 39.5(C-14), 39.2(C-22), 38.0(C-13), 36.2(C-19), 35.3(C-16), 35.0(C-9), 34.8(C-15), 34.7(C-30), 33.4(C-11), 32.6(C-28), 32.3(C-21), 32.2(C-29), 30.6(C-12), 30.3(C-17), 29.2(C-23), 28.4(C-20), 28.1(C-2), 25.6(C-24), 23.9(C-7), 18.8(C-27), 18.7(C-26), 18.5(C-1), 16.4(C-25).

화합물 2 - 백색 분말, m.p. : 190°C, EI-MS m/z(rel. int.) : 426(M^+ , 17), 411(10), 393(7), 274(100), $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500 \text{ MHz}, \delta \text{ ppm})$: 5.64(1H, d, $J=6.0 \text{ Hz}$, H-6), 3.48(1H, t, $J=3.0 \text{ Hz}$, H-3), 1.16(3H, s), 1.06(3H, s), 1.03(3H, s), 0.95(3H, s), 0.90(3H, d, $J=6.7 \text{ Hz}$), 0.85(3H, s), 0.84(3H, s), 0.80(3H, s), 0.78(3H, s), $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 125 \text{ MHz}, \delta \text{ ppm})$: 142.2(C-13), 122.2(C-12), 76.6(C-3), 60.2(C-18), 51.9(C-5), 50.4(C-9), 44.4(C-14), 43.0(C-22), 41.1(C-8), 39.5(C-20), 38.8(C-9), 35.6(C-4), 35.1(C-10), 31.2(C-17), 31.0(C-7), 29.3(C-21), 29.2(C-18), 28.5(C-23), 28.0(C-2), 25.7(C-15), 24.2(C-16), 23.1(C-29), 22.3(C-27), 20.1(C-30), 18.3(C-6), 18.1(C-11), 16.3(C-25), 15.2(C-24).

화합물 3 - 백색 분말, EI-MS m/z(rel. int.) : 426(M^+ , 25), 411(7), 393(3), 315(5), 210(100), $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500 \text{ MHz}, \delta \text{ ppm})$: 5.20(1H, d, $J=6.0 \text{ Hz}$, H-6), 3.51(1H, m, H-3), 1.09(3H, s), 1.03(3H, s), 1.02(3H, s), 0.99(3H, s), 0.97(3H, s), 0.85(3H, s), 0.82(3H, s), 0.81(3H, s), $^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 125 \text{ MHz}, \delta \text{ ppm})$: 145.4(C-13), 121.9(C-12), 79.2(C-3), 59.3(C-5), 55.4(C-18), 47.9(C-9), 47.4(C-19), 41.7(C-14), 39.8(C-4),

38.5(C-8), 37.8(C-1), 37.3(C-10), 37.2(C-22), 34.9(C-21), 33.1(C-29), 32.9(C-7), 32.7(C-17), 31.5(C-20), 28.9(C-28), 28.3(C-23), 27.5(C-2), 27.1(C-16), 26.4(C-15), 26.2(C-27), 23.7(C-30), 23.6(C-11), 18.6(C-6), 17.0(C-26), 15.9(C-25), 15.8(C-24).

화합물 4 - 백색 분말, m.p. : 89°C, EI-MS m/z(rel. int.) : 388(M⁺, 10), 327(23), 267(60), 239(45), 134(51), 98(72), 57(100), ¹H-NMR(DMSO-d₆, 500 MHz, δ ppm) : 7.65(1H, d, J=16.1 Hz, H-7), 7.43(2H, d, J=8.6 Hz, H-3, 5), 6.58(2H, d, J=8.6 Hz, H-2, 6), 6.31(1H, d, J=16.1 Hz, H-8), 4.20(2H, d, J=6.7 Hz, H-1'), 1.70(2H, m, H-2'), 1.28(brs, H-3'~H-15'), 0.89(3H, t, J=3.8 Hz, H-16), ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 125 MHz, δ ppm) : 167.6(C-9), 157.7(C-4), 144.3(C-7), 130.1(C-2, 6), 127.1(C-1), 116.1(C-3, 5), 116.0(C-8), 64.8(C-1'), 32.1(C-2'), 22.9~31.1(C-3'~C-15'), 14.3(C-16).

화합물 5 - 무색 오일, [α]_D²³ : -30.2°(CHCl₃, c=1.2), EI-MS m/z(rel. int.) : 166(M⁺, 43), 148(39), 133(97), 107(100), ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz, δ ppm) : 7.04(2H, d, J=8.2 Hz, H-3', 5'), 6.75(2H, d, J=8.2 Hz, H-2', 6'), 3.84(1H, m, H-2), 2.63(2H, m, H-4), 1.81(1H, m, H-3a), 1.74(1H, m, H-3b), 1.20(3H, d, J=6.2 Hz, H-1), ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz, δ ppm) : 155.3(C-4'), 133.4(C-1'), 129.7(C-3', 5'), 115.9(C-2', 6'), 65.5(C-2), 41.0(C-3), 30.2(C-4), 23.8(C-1)

화합물 6 - 무색 오일, [α]_D²³ : +25.3°(CHCl₃, c=1.3), EI-MS m/z(rel. int.) : 166(M⁺, 7), ¹H-NMR(DMSO-d₆, 500 MHz, δ ppm) : 6.97(2H, d, J=8.2 Hz, H-2', 6'), 6.65(2H, d, J=8.2 Hz, H-3', 5'), 4.30(1H, m, H-2), 2.51(2H, m, H-4), 1.54(1H, m, H-3a), 1.52(1H, m, H-3b), 1.02(3H, d, J=6.2 Hz, H-1), ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 125 MHz, δ ppm) : 155.1(C-4'), 132.4(C-1'), 129.0(C-2', 6'), 114.9(C-3', 5'), 65.2(C-2), 41.2(C-3), 30.7(C-4), 23.6(C-1).

화합물 7 - 백색 분말, m.p. : 278°C, EI-MS m/z(rel. int.) : 456(M⁺, 5), 347(10), 267(18), 248(100), ¹H-NMR(DMSO-d₆, 500 MHz, δ ppm) : 11.91(1H, s, COOH), 5.13(1H, d, J=5.5 Hz, H-6), 4.25(1H, d, J=5.5 Hz), 1.05(3H, s), 0.92(3H, s), 0.90(3H, s), 0.87(3H, s), 0.82(3H, s), 0.76(3H, s), 0.68(3H, s), ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 125 MHz, δ ppm) : 178.9(C-28), 138.9(C-13), 125.3(C-12), 77.5(C-3), 55.5(C-18), 53.1(C-5), 47.7(C-17), 47.5(C-9), 42.3(C-14), 39.9(C-4), 39.8(C-8), 39.2(C-1), 39.1(C-22), 39.0(C-10), 38.9(C-7), 37.8(C-19), 33.4(C-20), 31.1(C-15), 28.9(C-21), 27.7(C-27), 24.5(C-11), 23.5(C-2), 23.9(C-30), 23.6(C-23), 21.7(C-16), 18.7(C-29), 17.7(C-6), 17.6(C-25), 16.7(C-24), 15.9(C-26).

화합물 8 - 백색 분말, m.p. : 246°C, EI-MS m/z(rel. int.) : 394(M⁺, 4), 376(23), 358(25), 334(10), 316(78), 298(100), ¹H-

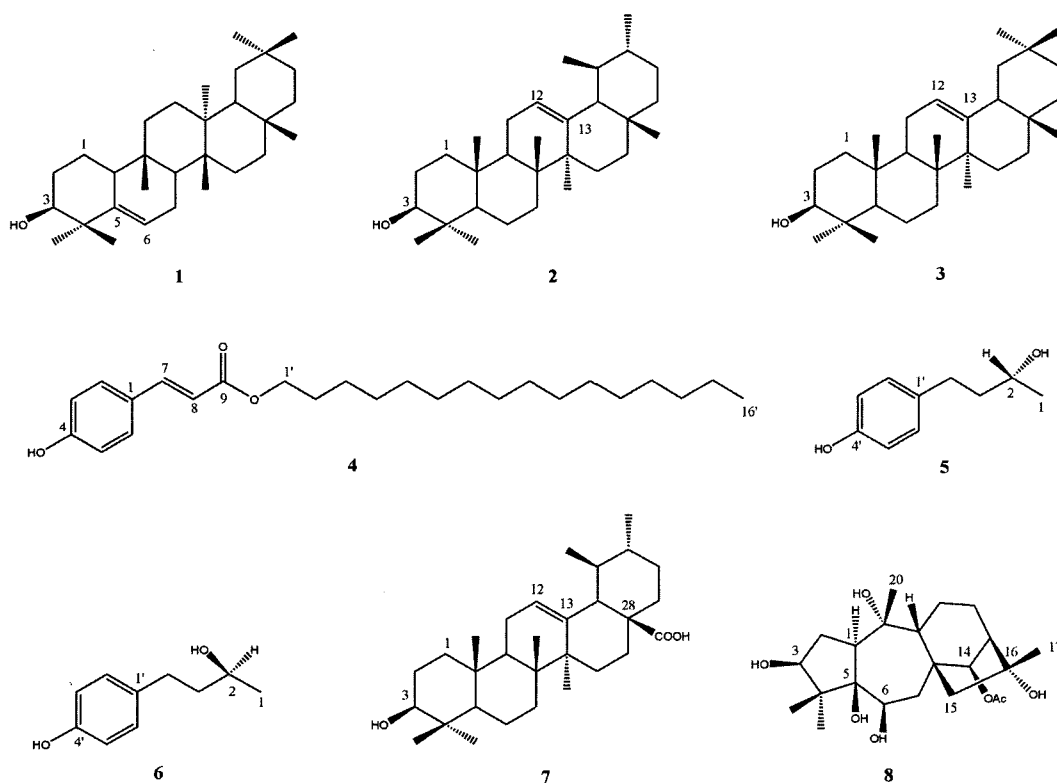


Fig. 1 - The structures of compounds (1~8) isolated from *Rhododendron brachycarpum*.

NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz, δ ppm): 5.29(1H, s, H-14), 3.70(1H, s, H-3), 3.65(1H, s, H-6), 2.38(1H, d, $J=5.1$ Hz H-7 α), 2.06(3H, s, COCH₃), 1.84(3H, m, H-7 β , H-2), 1.74(2H, m, H-15), 1.65(2H, m, H-11), 1.42(2H, m, H-12), 1.26(3H, s, H-20), 1.19(3H, s, H-19), 1.06(3H, s, H-17), 0.84(3H, s, H-18), ¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz, δ ppm) : 170.6(CO), 83.8(C-5), 81.8(C-14), 81.6(C-3), 77.8(C-10), 77.2(C-16), 73.0(C-6), 60.6(C-15), 55.4(C-9), 54.3(C-13), 51.2(C-4), 50.4(C-1), 50.3(C-8), 43.3(C-7), 35.4(C-2), 28.1(C-20), 27.0(C-12), 24.7(C-17), 23.4(C-18), 21.9(C-11), 21.9(CH₃), 19.8(C-19).

세포독성실험

세포독성 실험은 Sulforhodamin-B(SRB) Bioassay 방법으로 수행하였다. 실험에 사용한 암세포주들은 A549(non small cell lung carcinoma), SK-OV-3(ademomcarcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2(malignant melanoma, metastasis to skin of thigh), XF-498(central nerve system tumor) 및 HCT-15(conlon ademocarcinoma) 등이다.

결과 및 고찰

화합물 1은 백색 분말상으로 10% H₂SO₄에서 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 426에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 olefinic proton을 δ 5.65(1H, d, $J=6.0$ Hz)에서 관찰할 수 있었으며, oxygenated proton을 δ 3.48(1H, d, $J=2.9$ Hz)에서 관찰하였다. 또한 aliphatic 지역에서 8개의 terminal methyl기를 δ 1.18(3H, s), 1.16(3H, s), 1.11(3H, s), 1.06(3H, s), 1.02(3H, s), 1.00(3H, s), 0.97(3H, s) 및 0.87(3H, s)에서 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 olefinic carbon을 δ 141.8과 122.2에서 관찰할 수 있으며, oxygenated carbon을 δ 76.5(C-3)에서 관찰하였다. 이상의 자료들을 근거로 하여 1을 pentacyclic tritrepene으로 예상하고 기존 문헌⁵⁻⁸⁾과 비교하여 1을 glutinol로 확정하였다.

화합물 2는 백색 분말상으로 10% H₂SO₄에서 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 426에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 olefinic proton을 δ 5.64(1H, d, $J=6.0$ Hz)에서 관찰할 수 있었으며, oxygenated proton을 δ 3.48(1H, d, $J=2.9$ Hz)에서 관찰하였다. 또한 aliphatic 지역에서 8개의 terminal methyl기를 δ 1.16(3H, s), 1.03(3H, s), 0.95(3H, s), 0.85(3H, s), 0.84(3H, s), 0.84(3H, s), 0.80(3H, s) 및 0.78(3H, s)에서 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 olefinic carbon을 δ 142.2과 122.2에서 관찰할 수 있으며, oxygenated carbon을 δ 76.6에서 관찰되었다. 이상의 자료들을 근거로 하여 2를 pentacyclic tritrepene으로 예상하고 기

존 문헌⁶⁻⁸⁾과 비교하여 2를 3 β -hydroxyurs-12-ene로 확정하였다.

화합물 3은 백색 분말상으로 10% H₂SO₄에서 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 426에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 olefinic proton을 δ 5.20(1H, d, $J=6.0$ Hz)에서 관찰할 수 있었으며, oxygenated proton을 δ 3.51(1H, m, H-3)에서 관찰하였다. 또한 aliphatic 지역에서 8개의 terminal methyl기를 δ 1.09(3H, s), 1.03(3H, s), 1.02(3H, s), 0.99(3H, s), 0.97(3H, s), 0.85(3H, s), 0.82(3H, s) 및 0.81(3H, s)에서 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 olefinic carbon을 δ 145.4과 121.9에서 관찰할 수 있으며, oxygenated carbon을 δ 79.2에서 관찰하였다. 이상의 자료들을 근거로 하여 3을 pentacyclic tritrepene으로 예상하고 기존 문헌⁶⁻⁸⁾과 비교하여 3을 3 β -hydroxyolean-12-ene으로 확정하였다.

화합물 4는 백색 분말상으로 anis-aldehyde H₂SO₄에 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 388에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 olefinic proton을 δ 7.65(1H, d, $J=16.1$ Hz, H-7) 및 6.31(1H, d, $J=16.1$ Hz, H-8)에서, aromatic proton을 7.43(2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3, 5), 6.58(2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2, 6)에서 관찰하였다. 또한 oxygenated proton을 δ 4.20(2H, d, $J=6.7$ Hz)에서 관찰하였다. ¹³C-NMR spectrum에서 δ 167.6에서 carbonyl carbon을, δ 116.1 및 144.3에서 olefinic proton을, δ 157.7, 130.1(2C), 127.1 및 116.0(2C)에서 aromatic carbon을 각각 관찰할 수 있었다. 또한 oxygenated carbon을 δ 64.8에서 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로 4의 구조를 기존 문헌^{9,10)}과 비교하여 (*E*)-*p*-hydroxycinnamic acid hexadecylester로 확정하였다.

화합물 5는 무색 오일상으로 $[\alpha]_D^{23}$ 가 -30.2° (CHCl₃, $c=1.2$)이며 anis-aldehyde H₂SO₄에 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 166에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 aromatic proton을 δ 7.04(2H, d, $J=8.2$ Hz), 6.75(2H, d, $J=8.2$ Hz)에서, oxygenated proton을 δ 3.84(1H, m)에서 각각 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 aromatic carbon을 δ 155.3, 133.4, 129.7, 115.9에서, oxygenated carbon을 δ 65.5에서 각각 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로 탄소 10개의 arylbutanoid로 추정하였으며, 2번 탄소에 붙어있는 수소와 hydroxy기의 입체구조를 기존 문헌¹¹⁻¹⁷⁾과 비교하여 5를 (-)-rhododendron으로 확정하였다.

화합물 6은 무색 오일상으로 $[\alpha]_D^{23}$ 가 $+25.3^\circ$ (CHCl₃, $c=1.3$)이며 anis-aldehyde H₂SO₄에 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 166에서 관찰되었다. ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectrum은 화합물 5와 거의 동일하였다. 화합물 5와는 단지 $[\alpha]$ 값만 차이가 있어서 입체 이성체로 추정하였다. 이상의 결과로 2번 탄소에 붙어있는 수소와 hydroxy기의 입체구조를 기존 문헌¹¹⁻¹⁷⁾과 비교하여 물질 6을

(+)-rhododendron으로 확정하였다.

화합물 7은 백색 분말상으로 10% H₂SO₄에서 갈색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 456에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 olefinic proton을 δ 5.13(1H, d, J=6.0 Hz)에서 관찰할 수 있었으며, oxygenated proton을 δ 4.25(1H, d, J=5.0 Hz)에서 관찰하였다. 또한 aliphatic 지역에서 7개의 terminal methyl기를 δ 1.05(3H, s), 0.92(3H, s), 0.90(3H, s), 0.87(3H, s), 0.82(3H, s), 0.76(3H, s) 및 0.68(3H, s)에서 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 δ 178.9에서 carbonyl 탄소와 δ 141.8과 122.2에서 olefinic carbon을 관찰할 수 있었다. 이상의 자료들을 근거로 하여 7을 pentacyclic triterpene으로 예상하고 기존 문헌^{6,8)}과 비교하여 7을 3β-hydroxyurs-12-en-28-oic acid로 확정하였다.

화합물 8은 백색 분말상으로 anis-aldehyde H₂SO₄에 남색으로 발색되었다. EI-MS spectrum에서 molecular ion peak [M]⁺가 m/z 394에서 관찰되었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 5.29(1H, s), 3.70(1H, s) 및 3.65(1H)에서 3개의 oxygenated methine proton peak가 관찰되었다. 그리고 acetyl peak가 δ 2.06(3H, s)에서 관찰되었고 3개의 singlet methyl proton peak가 δ 1.19(3H, s), 1.06(3H, s) 및 0.84(3H, s)에서 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서 δ 81.8, 81.6 및 73.0에서 oxygenated methine carbon을, δ 83.8, 77.8 및 77.2에서 oxygenated quaternary carbon을 각각 관찰할 수 있었다. 따라서 이 화합물은 hydroxyl기 4개, acetyl기 1개를 갖는 diterpenoid로 추정하였다. 이상의 결과를 종합하고 문헌^{18,19)}과 비교하여 8을 kaurane type diterpenoid인 grayanotoxin I로 확정하였다.

이상의 8종 화합물을 5종의 암세포주에 대하여 세포독성 활성 실험을 실시하여 본 결과 화합물 8에서는 ED₅₀값이 3.94(A549), 3.21(SK-OV-3), 3.72(SK-MEL-2), 4.05(XF-498) 및 4.01 μg/ml(HCT15)으로 나타났으며, 기타의 화합물에서는 ED₅₀값이 >10.00 μg/ml의 미약한 활성을 보였다.

문 헌

- Lee, Y. N. : *Flora of Korea* 3rd ed., Kyohak, p. 383 (1998).
- Choi, J. S., Young, H. S., Park, J. C., Choi, J. H. and Woo, W. S. : Flavonoids from the leaves of *Rhododendron brachycarpum*. *Arch. Pharm. Res.* **9**, 233 (1986).
- Youn, H. S. and Cho, J. H. : Isolation and structure elucidation of triterpenoidal constituents from the leaves of *Rhododendron brachycarpum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **22**, 18 (1991).
- Lozyuk, L. V. : Antiviral properties of some compounds of plants origin. *Mikrobiologichnii Zhurnal.* **39**, 343 (1997).
- Antonio, G. G., Esteban, A. F. and Angel, G. R. : Triterpenes from maytenus horrida. *Phytochemistry* **26**, 2785 (1987).
- Shashi, B. M. and Asish, P. K. : ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids - a compilation and some salient features. *Phytochemistry* **37**, 1517 (1994).
- Shashi, B. M., Ashoke, K. N. and Gita, R. : Triterpenoids. *Phytochemistry* **31**, 2199 (1992).
- Manik, C. D. and Shashi, B. M. : Triterpenoids. *Phytochemistry* **22**, 1071 (1983).
- Uwe, K., Mack, K. and Heinz, S. : Isolation and structure elucidation of *p*-hydroxycinnamic acid esters from the rhizome of *Agropyron reoens*. *Planta Medica* **59**, 279 (1993).
- Maurice, E. S., Emma, S. D. and Stanley, J. K. : Characterization and quantitation of hexadecyl, octadecyl, and eicosyl esters of *p*-coumaric acid in the vine and root latex of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] *J. Agric. Food Chem.* **42**, 2589 (1994).
- Hefeng, P. and Lennart, N. L. : Rhododendrol glycosides and phenyl glucoside esters from inner bark *Betula pubescens*. *Phytochemistry* **36**, 79 (1994).
- Martina, K. and Meinhart, H. Z. : Stereochemistry of *c*-methylation in the biosynthesis of rhododendrin in *Alnus* and *Betula*. *Phytochemistry* **17**, 1281 (1978).
- Das, B., Padama, R. S., Srinivas, K. V. N. S. and Yadav, J. S. : Stereospecific synthesis and absolute configuration of (+)-rhododendrol. *Phytochemistry* **33**, 1529 (1993).
- Alex, C., Maysa, F., Laurence, B. D., Jaroslav, Z., Tower, G. H. N., Chantal, M. S., Steven, J. R., Rodney, C. and Norman, G. L. : Phenylbutanoid and taxane-like metabolites from needles of *Taxus brevifolia*. *Phytochemistry* **36**, 975 (1994).
- Takashi, F., Hitoshi, H., Taisuke, I. and Shin-ichi, T. : Bioconversion of rhododendrol by *Acer nikoense*. *Phytochemistry* **39**, 1085 (1995).
- Masayoshi, K., Masahiro, N. and Takao, I. : Studies on the constituents of Aceraceae plants. IV. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of acerogenin A, rhododendrol and related compounds, and structure of aceroside IV from *acer nikoense*. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 1917 (1983).
- Elita, S., Lennart, N. L. and Rolf, A. : Arylbutanoid and diarylheptanoid glycosides from inner bark of *Betula pendula*. *Phytochemistry* **32**, 365 (1993).
- Choi, J. S., Young, H. S., Park, J. C., Choi, J. H. and Woo, W. S. : Further study on the constituents of *Rhododendron brachycarpum*. *Arch. Pharm. Res.* **10**, 169 (1987).
- James, A. K., Mei-Ying, H., Shin-Foon, C. and Iaso, K. : Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle*. *Phytochemistry* **30**, 1797 (1991).