

芍藥의 成分研究 (3). Triterpenoid의 분리

김주선 · 김윤정 · 이소영 · 강삼식*

서울대학교 약학대학, 천연물과학연구소

Phytochemical Studies on *Paeoniae Radix* (3) - Triterpenoids

Ju Sun Kim, Yoon Jung Kim, So Young Lee and Sam Sik Kang*

Natural Products Research Institute and College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract – From the 70% EtOH extract from the roots of *Paeonia lactiflora* (Paeoniaceae), nine triterpenoids were isolated and identified as β -amyrin (1), 24-methylenecycloartanol (2), betulinic acid (3), oleanolic acid (4), hederagenin (5), 30-norhederagenin (6), 30-norarjunolic acid (7), arjunolic acid (8), and 3 β ,4 β ,23-trihydroxy-24,30-dinorolean-12,20(29)-dien-28-oic acid (9) by spectroscopic methods. Among these compounds, 1, 2, 7, 8 and 9 were isolated for the first time from this plant.

Key words – *Paeonia lactiflora*, Paeoniaceae, triterpenoid

전보에서 저자들은 작약으로부터 10종의 monoterpene glucoside 들¹⁾과 14종의 phenol성 성분 및 관련화합물들²⁾을 분리하여 보고한 바 있다. 작약의 성분들 가운데 주성분인 monoterpene 성분 이외에 수종의 triterpenoid성분들이 분리되었다. 즉 oleanolic acid, hederagenin, 30-norhederagenin, betulinic acid, 11 α ,12 α -epoxy-3 β ,23-dihydroxyolean-28,13 β -olide 등이 분리 보고^{3,4)}된 바 있으며, 작약의 조직배양으로 얻은 callus로부터도 수종의 triterpenoid성분들이 분리 보고⁵⁾된 바 있다. 계속적인 연구 결과 9종의 triterpenoid성분들을 분리하여 구조를 확인하였으므로 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 작약은 2005년 5월, 서울 제기동 아산건재약업사에서 경북 의성산 작약 약 20 kg을 구입하여 사용하였다. 본 시료는 동국대학교 한의과대학 이제현 교수가 감정을 하였으며, 표본(LJH 2005-12)은 동국대학교 한의과대학에 보관되어 있다.

기기 및 시약 – 선광도는 Jasco P-1020 polarimeter를 사용하였으며, IR은 Jasco FT/IR-5300을 사용하여 측정하였다. NMR은 Varian Gemini 2000 (300 MHz) 또는 Bruker

Avance-500 (500 MHz) spectrometer를 사용하여 측정하였다. EI-MS는 Hewlett-Packard 5989B GC/MS, 고분해능 EI-MS는 Jeol JMS-700 high resolution mass spectrometer를 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Merck의 Kieselgel 60 (no. 7734 또는 7729)을, 역상크로마토그래피는 Merck의 LiChroprep RP-18을 사용하였다. TLC plate는 Merck의 Kieselgel 60F₂₅₄ 또는 RP-18_{254S} precoated plate를 사용하였다.

추출 및 분리 – 구입한 작약 18 kg을 분쇄기로 분쇄한 후 70% EtOH로 70~80°C에서 3시간씩 5회 추출하여 70% EtOH 엑스 2,642 g을 얻었다. 이를 H₂O (20 l)로 현탁시켜 동량의 CH₂Cl₂를 가하여 진탕 방치하여 얻어진 CH₂Cl₂ 분획을 농축하여 *n*-hexane-MeOH-H₂O=10:9:1의 비로 혼합한 용매를 가한 후 진탕 방치하여 *n*-hexane 분획 (83.5 g)을 얻고 90% MeOH층은 농축하여 90% MeOH 분획 (78.4 g)을 얻었다. CH₂Cl₂ 분획 후 수층에 동량의 EtOAc를 가하여 진탕 방치하여 EtOAc 분획 (300.0 g)을 얻고, 수층에 다시 동량의 *n*-BuOH을 가하여 진탕 방치하여 *n*-BuOH 분획 (680.1 g)을 얻었으며, 수층을 농축하여 H₂O 분획 (1,500 g)을 얻었다.

n-Hexane 분획 (83.5 g)에 대하여 *n*-hexane-EtOAc (gradient)의 용출용매로 silica gel (no. 7734) column chromatography를 실시하였다. 이로부터 얻은 소분획 H-63 (115 mg)을 silica gel (no. 7729) column에 걸고, *n*-hexane-CHCl₃ (10:1 → 10:8), CHCl₃, CHCl₃-MeOH (10:1 → 1:1)로 순차

*교신저자(E-mail): sskang@snu.ac.kr
(FAX): 02-743-3323

적으로 용출시켜 얻은 소분획 H-63-62 (40 mg)을 RP-18 칼럼에 걸어 MeOH로 용출시켜 얻은 소분획 H-63-62-128 (5 mg)로부터 MeOH-CH₂Cl₂ 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 1 (3 mg)을 얻었다. 소분획 H-63-62-149 (7 mg)로부터 MeOH-CH₂Cl₂ 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 2 (6 mg)를 얻었다. 90% MeOH 분획 (78.4 g)에 대하여 CH₂Cl₂ 및 CH₂Cl₂-MeOH (gradient)의 용출용매로 silica gel (no. 7734) column chromatography를 실시하였다. 이로부터 얻은 소분획 M-110 (167 mg)으로부터 CH₂Cl₂로 재결정을 반복하여 화합물 3 (160 mg)을 얻었다. 또한 소분획 M-127 (110 mg)로부터 MeOH-CH₂Cl₂ 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 4 (100 mg)를 얻었다. 소분획 M-277 (1.2 g)로부터 MeOH-CH₂Cl₂ 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 5 (1 g)를 얻었다. EtOAc분획 (290 g)에 대하여 CH₂Cl₂-MeOH gradient (5 → 20% MeOH)의 용출용매로 silica gel (no. 7734) column chromatography를 실시하여 얻은 소분획 E-13 (0.6 g)을 다시 silica gel (no. 7729) column에 걸고 *n*-hexane-EtOAc (gradient) 혼합용매로 용출시켜 얻은 소분획 E-13-77로부터 *n*-hexane-EtOAc 혼합용매로 재결정하여 화합물 6 (19 mg)을 얻었다. 소분획 E-33 (10.9 g)을 silica gel (no. 7734) column에 걸어 *n*-hexane-EtOAc (gradient) 혼합용매로 용출시켜 얻은 소분획 E-33-206 (3.3 g)을 RP-18 column에 걸고 70% MeOH로 용출시켜 얻은 소분획 E-33-206-21 (60 mg)을 얻었다. 이를 다시 RP-18 column에 걸고 80% MeOH로 용출시켜 얻은 소분획 E-33-206-21-7 (10 mg)로부터 화합물 7 (7 mg)을 얻었다. 소분획 E-33-206-21-62 (5 mg)로부터 화합물 8 (4 mg)을 얻었으며, 소분획 E-33-206-21-77 (12 mg)로부터 화합물 9 (10 mg)를 얻었다.

β-Amyrin (1) - 백색 무정형분말. $[\alpha]_D^{19} +74.1^\circ$ (c, 0.2 in CHCl₃). IR ν_{\max} (KBr) 3432 (OH), 2945 (CH), 1634 (double bond), 1461 (CH₂), 1385 (CH₃), 1032 (CO) cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.79 (3H, s, CH₃-24), 0.83 (3H, s, CH₃-28), 0.87 (6H, s, CH₃-29, 30), 0.94 (3H, s, CH₃-25), 0.97 (3H, s, CH₃-26), 1.00 (3H, s, CH₃-23), 1.13 (3H, s, CH₃-27), 3.22 (1H, dd, $J=4.5, 10.2$ Hz, H-3), 5.18 (1H, t, $J=3.6$ Hz, H-12); (300 MHz, pyridine-d₃) δ : 0.90, 0.91, 0.92, 0.97, 1.01, 1.07, 1.22, 1.25 (3H each, s, 8 × CH₃), 3.45 (1H, dd, $J=5.4, 10.2$ Hz, H-3), 5.25 (1H, t, $J=3.3$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ : Table I; EI-MS (rel. int., %) m/z 426 [M]⁺ (10), 411 [M-CH₃]⁺ (13), 393 [M-(CH₃+H₂O)]⁺ (8), 218 [D/E ring]⁺ (100), 203 [D/E ring-CH₃]⁺ (42), 189 (18), 175 (10), 69 (88).

24-Methylenecycloartanol (2) - 백색 무정형분말. $[\alpha]_D^{19} +33.9^\circ$ (c, 0.45 in CHCl₃). IR ν_{\max} (KBr) 3431 (OH), 2937, 2868 (CH), 1464 (CH₂), 1377 (CH₃), 887

(C=CH₂) cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.33 (1H, d, $J=4.2$ Hz, H-19a), 0.56 (1H, d, $J=4.2$ Hz, H-19b), 0.81 (3H, s, CH₃-29), 0.90 (3H, s, CH₃-30), 0.97 (6H, s, CH₃-18, 28), 0.89 (3H, d, $J=6.3$ Hz, CH₃-21), 1.02 (3H, d, $J=6.9$ Hz, CH₃-26), 1.03 (3H, d, $J=7.2$ Hz, CH₃-27), 3.28 (1H, dd, $J=4.5, 11.4$ Hz, H-3), 4.66 (1H, d, $J=1.5$ Hz, C=CH₂), 4.72 (1H, brs, C=CH₂); (300 MHz, pyridine-d₃) δ : 0.32 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-19), 0.56 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-19), 0.94, 1.02, 1.11, 1.23 (3H each, s, 4 × CH₃), 0.96 (3H, d, $J=7.8$ Hz, CH₃), 1.04 (3H, d, $J=6.6$ Hz, CH₃), 1.07 (3H, d, $J=6.9$ Hz, CH₃), 3.54 (1H, dd, $J=4.8, 11.1$ Hz, H-3), 4.87 (2H, brs, C=CH₂); ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ : 32.0 (C-1), 30.4 (C-2), 78.8 (C-3), 40.5 (C-4), 47.1 (C-5), 21.1 (C-6), 26.0 (C-7), 48.0 (C-8), 20.0 (C-9), 26.1 (C-10), 26.5 (C-11), 32.9 (C-12), 45.3 (C-13), 48.8 (C-14), 35.6 (C-15), 28.1 (C-16), 52.3 (C-17), 18.0 (C-18), 29.9 (C-19), 36.1 (C-20), 18.3 (C-21), 35.0 (C-22), 31.3 (C-23), 156.9 (C-24), 33.8 (C-25), 22.0 (C-26), 21.9 (C-27), 25.4 (C-28), 14.0 (C-29), 19.3 (C-30), 105.9 (C=CH₂); EI-MS (rel. int., %) m/z 440 [M]⁺ (4), 425 [M-CH₃]⁺ (5), 422 [M-H₂O]⁺ (9), 407 [M-(CH₃+H₂O)]⁺ (9), 379 (8), 353 (2), 315 (2), 300 (15), 175 (25), 69 (100), 55 (93).

Betulinic acid (3) - 백색 무정형분말. ¹H-NMR (300 MHz, pyridine-d₃) δ : 0.82 (3H, s, CH₃-25), 1.00 (3H, s, CH₃-24), 1.05 (3H, s, CH₃-26), 1.06 (3H, s, CH₃-27), 1.22 (3H, s, CH₃-23), 1.78 (3H, s, CH₃-30), 2.24 (1H, m, H-21 β), 2.26 (1H, m, H-22 β), 2.62 (1H, dt, $J=2.7, 12.6$ Hz, H-16 β), 2.73 (1H, ddd, $J=3.0, 11.4, 11.6$ Hz, H-13), 3.53 (1H, ddd, $J=3.9, 10.4, 10.4$ Hz, H-19), 3.45 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-3), 4.76 (1H, dd, $J=0.9, 1.8$ Hz, H-29), 4.94 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-29); ¹³C-NMR (75.5 MHz, pyridine-d₃) δ : 39.2 (C-1), 28.2 (C-2), 78.1 (C-3), 39.5 (C-4), 55.9 (C-5), 18.7 (C-6), 34.8 (C-7), 41.1 (C-8), 50.9 (C-9), 37.5 (C-10), 21.1 (C-11), 26.1 (C-12), 38.6 (C-13), 42.8 (C-14), 31.1 (C-15), 32.8 (C-16), 56.6 (C-17), 47.7 (C-18), 49.7 (C-19), 151.3 (C-20), 30.2 (C-21), 37.6 (C-22), 28.6 (C-23), 16.3 (C-24), 16.4 (C-25), 16.4 (C-26), 14.8 (C-27), 178.8 (C-28), 109.9 (C-29), 19.4 (C-30); EI-MS (rel. int., %) m/z 456 [M]⁺ (1), 438 [M-H₂O]⁺ (1), 423 [M-(CH₃+H₂O)]⁺ (1), 248 (11), 234 (5), 207 (16), 189 (36), 175 (15), 135 (44), 119 (56), 95 (89), 81 (100).

Oleanolic acid (4) - 백색 무정형분말. ¹H-NMR (300 MHz, pyridine-d₃) δ : 0.89, 0.94, 1.00, 1.02, 1.02, 1.24, 1.28 (3H each, s, 7 × CH₃), 3.31 (1H, dd, $J=4.2, 13.5$ Hz, H-18), 3.44 (1H, dd, $J=6.9, 9.3$ Hz, H-3), 5.50 (1H, t,

Table I. ^{13}C -NMR data of **1**, **4-9** in pyridine- d_5

| Carbon no. | 1* | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 38.6 | 38.9 | 38.8 | 38.8 | 47.7 | 47.7 | 38.6 |
| 2 | 26.9 | 28.1 | 27.7 | 27.7 | 68.8 | 68.9 | 27.2 |
| 3 | 79.0 | 78.1 | 73.4 | 73.3 | 78.2 | 78.2 | 70.9 |
| 4 | 38.8 | 39.4 | 42.9 | 42.9 | 43.6 | 43.6 | 75.8 |
| 5 | 55.2 | 55.8 | 48.6 | 48.5 | 47.9 | 47.9 | 48.0 |
| 6 | 18.4 | 18.8 | 18.6 | 18.5 | 18.5 | 18.5 | 18.4 |
| 7 | 32.7 | 33.2 | 33.0 | 32.9 | 32.8 | 32.9 | 32.9 |
| 8 | 39.8 | 39.8 | 39.8 | 39.8 | 39.8 | 39.8 | 39.7 |
| 9 | 47.6 | 48.1 | 48.1 | 48.1 | 47.9 | 48.2 | 47.2 |
| 10 | 37.1 | 37.4 | 37.2 | 37.2 | 38.4 | 38.4 | 37.0 |
| 11 | 23.5 | 23.7 | 23.7 | 23.8 | 23.7 | 23.6 | 23.7 |
| 12 | 121.7 | 122.6 | 122.6 | 123.0 | 122.9 | 122.5 | 123.2 |
| 13 | 145.2 | 144.8 | 144.8 | 144.1 | 144.2 | 144.9 | 144.3 |
| 14 | 41.7 | 42.2 | 42.2 | 42.1 | 42.1 | 42.2 | 42.2 |
| 15 | 26.2 | 28.3 | 28.3 | 28.3 | 28.3 | 28.3 | 28.2 |
| 16 | 27.2 | 23.8 | 23.8 | 23.8 | 23.9 | 23.9 | 23.7 |
| 17 | 32.5 | 46.7 | 46.6 | 47.0 | 47.0 | 46.6 | 47.0 |
| 18 | 47.2 | 46.5 | 46.4 | 47.9 | 48.1 | 46.4 | 48.0 |
| 19 | 46.8 | 42.0 | 42.0 | 41.9 | 41.9 | 41.9 | 41.9 |
| 20 | 31.1 | 31.0 | 30.9 | 149.1 | 149.1 | 30.9 | 149.1 |
| 21 | 34.7 | 34.2 | 34.2 | 38.3 | 38.4 | 34.2 | 38.3 |
| 22 | 36.9 | 33.3 | 33.2 | 30.4 | 30.4 | 33.2 | 30.3 |
| 23 | 28.1 | 28.8 | 67.9 | 66.7 | 66.4 | 66.5 | 64.0 |
| 24 | 15.5 | 16.5 | 13.1 | 13.1 | 14.4 | 14.4 | - |
| 25 | 15.6 | 15.5 | 15.9 | 15.9 | 17.3 | 17.3 | 15.7 |
| 26 | 16.8 | 17.4 | 17.5 | 17.4 | 17.4 | 17.5 | 17.7 |
| 27 | 26.0 | 26.2 | 26.1 | 26.1 | 26.1 | 26.1 | 26.2 |
| 28 | 28.4 | 180.2 | 180.2 | 179.4 | 179.4 | 180.2 | 179.4 |
| 29 | 33.3 | 33.3 | 33.2 | 107.1 | 107.1 | 33.2 | 107.0 |
| 30 | 23.7 | 23.8 | 23.8 | - | - | 23.7 | - |

*in CDCl_3 solution.

$J=3.3$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, pyridine- d_5) δ : Table I; EI-MS (rel. int., %) m/z 456 $[\text{M}]^+$ (1), 410 $[\text{M}-(\text{COOH}+\text{H})]^+$ (1), 248 $[\text{a}(\text{ring D/E})]^+$ (52), 233 (5), 203 $[\text{a}-\text{COOH}]^+$ (46), 175 (8), 133 (30), 69 (100).

Hederagenin (5) – 백색 무정형분말. ^1H -NMR (300 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.92, 0.96, 0.99, 1.04, 1.05, 1.23 (3H each, s, $6\times\text{CH}_3$), 3.29 (1H, dd, $J=4.2$, 13.8 Hz, H-18), 4.19 (1H, t, $J=8.7$ Hz, H-3), 3.71, 4.17 (1H each, d, $J=10.2$ Hz, H-23), 5.49 (1H, t, $J=3.3$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, pyridine- d_5) δ : Table I; EI-MS (rel. int., %) m/z 472 $[\text{M}]^+$ (1), 426 $[\text{M}-(\text{COOH}+\text{H})]^+$ (1), 248 $[\text{a}(\text{ring D/E})]^+$ (82), 203 $[\text{a}-\text{COOH}]^+$ (70), 175 (18), 133

(33), 55 (100).

30-Norhederagenin (6) – 백색 무정형분말. ^1H -NMR (300 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.95, 1.02, 1.04, 1.19 (3H each, s, $4\times\text{CH}_3$), 2.61 (1H, t, $J=13.8$ Hz, H-19), 3.23 (1H, dd, $J=4.8$, 13.5 Hz, H-18), 3.72 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-23), 4.19 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-23), 4.21 (1H, dd, $J=6.3$, 9.9 Hz, H-3), 4.74 (1H, brs, H-29), 4.78 (1H, brs, H-29), 5.50 (1H, t, $J=3.3$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (75.5 MHz, pyridine- d_5) δ : Table I; EI-MS (rel. int., %) m/z 456 $[\text{M}]^+$ (12), 438 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (6), 420 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ (4), 410 $[\text{M}-(\text{COOH}+\text{H})]^+$ (12), 379 $[\text{M}-(\text{CH}_2\text{OH}+\text{COOH}+\text{H})]^+$ (5), 232 $[\text{D/E ring}]^+$ (89), 223 $[\text{A/B ring}]^+$ (12), 206 $[\text{A/B}$

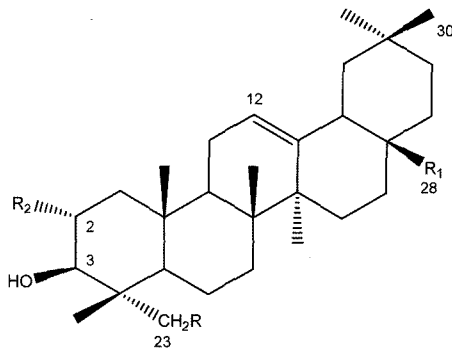
ring-H₂O]⁺ (25), 187 [D/E ring-COOH]⁺ (100).

30-Norarjunolic acid (7) – 백색 무정형분말. ¹H-NMR (300 MHz, pyridine-d₅) δ: 1.00, 1.04, 1.05, 1.15 (3H each, s, 4×CH₃), 2.57 (1H, t, *J*=13.5 Hz, H-19), 3.20 (1H, dd, *J*=4.8, 13.5 Hz, H-18), 3.71 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-23), 4.21 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-23), 4.23 (1H, d, *J*=9.3 Hz, H-3), 4.23 (1H, ddd, *J*=3.6, 9.3, 14.1 Hz, H-2), 4.72 (1H, brs, H-29a), 4.77 (1H, brs, H-29b), 5.46 (1H, t, *J*=3.3 Hz, H-12); ¹³C-NMR (75.5 MHz, pyridine-d₅) δ: Table I; EI-MS (rel. int., %) *m/z* 472 [M]⁺ (5), 454 [M-H₂O]⁺ (1.5), 436 [M-2H₂O]⁺ (2.2), 426 [M-(COOH+H)]⁺ (5), 408 [M-(H₂O+COOH+H)]⁺ (2.2), 232 [D/E ring]⁺ (92), 187 [D/E ring-COOH]⁺ (100), 173 (20).

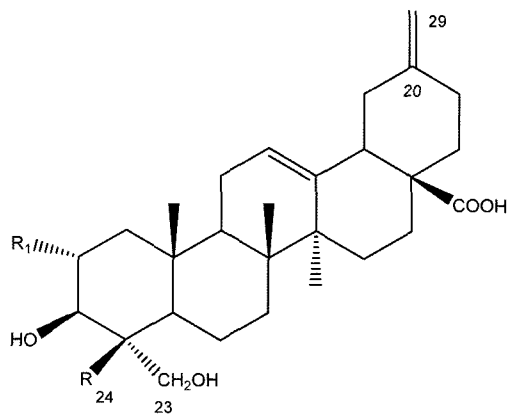
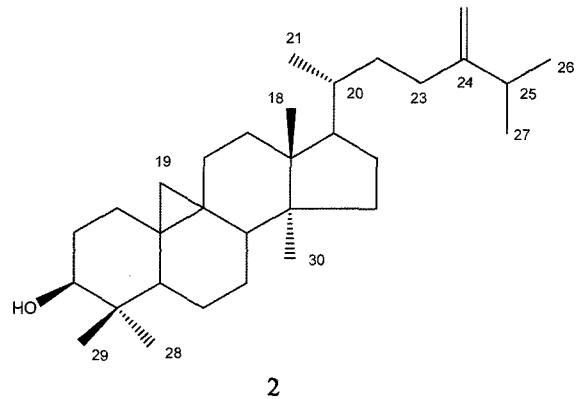
Arjunolic acid (8) – 백색 무정형분말. ¹H-NMR (300 MHz, pyridine-d₅) δ: 0.90, 0.97, 1.03, 1.06, 1.19 (3H each, s, 6×CH₃), 3.27 (1H, dd, *J*=3.5, 13.5 Hz, H-18),

3.72 (1H, d, *J*=10.8 Hz, H-23), 4.18-4.28 (3H, m, H-2, 3, 23), 5.45 (1H, t-like, H-12); ¹³C-NMR (75.5 MHz, pyridine-d₅) δ: Table I; EI-MS (rel. int., %) *m/z* 442 [M-COOH+H]⁺ (2), 248 [D/E ring]⁺ (74), 203 [D/E ring-COOH]⁺ (100), 189 (27), 173 (21), 133 (71), 119 (65), 105 (90).

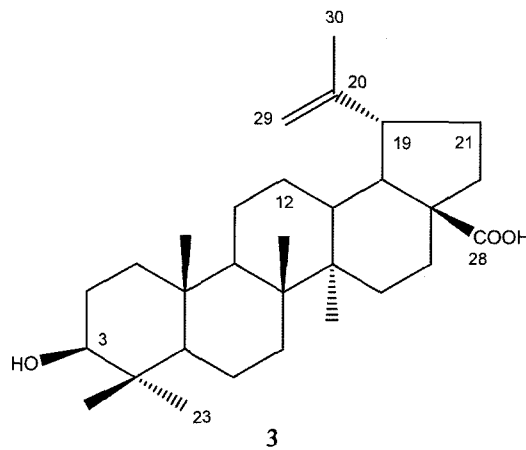
3β,4β,23-Trihydroxy-24,30-dinorolean-12,20(29)-dien-28-oic acid (9) – 백색 무정형분말. [α]_D²⁷ +161.0° (c, 0.12 in MeOH). ¹H-NMR (300 MHz, pyridine-d₅) δ: 1.10 (3H, s, CH₃-26), 1.19 (3H, s, CH₃-27), 1.37 (3H, s, CH₃-25), 2.61 (1H, t, *J*=13.5 Hz, H-19), 3.23 (1H, dd, *J*=4.5, 13.5 Hz, H-18), 4.05, 4.36 (1H each, d, *J*=10.2 Hz, H-23), 4.28 (1H, dd, *J*=5.1, 11.4 Hz, H-3), 4.73, 4.78 (1H each, brs, H-29), 5.51 (1H, t, *J*=3.3 Hz, H-12); ¹³C-NMR (75.5 MHz, pyridine-d₅) δ: Table I; EI-MS (rel. int., %) *m/z* 458 [M]⁺ (2), 427 [M-CH₂OH]⁺



- 1 R = R₂ = H R₁ = CH₃
 4 R = R₂ = H R₁ = COOH
 5 R = OH R₁ = COOH R₂ = H
 8 R = OH R₁ = COOH R₂ = OH



- 6 R = CH₃ R₁ = H
 7 R = CH₃ R₁ = OH
 9 R = OH R₁ = H



(15), 412 $[M - (CH_2OH + CH_3)]^+$ (1), 381 $[M - (CH_2OH + COOH + H)]^+$ (2.5), 363 $[M - (CH_2OH + COOH + H + H_2O)]^+$ (2), 232 (ring D/E)⁺ (46.5), 187 $[232 - COOH]^+$ (100), 159 (27.6), 131 (45.5), 105 (60), 81 (66), 55 (84); HR-EIMS m/z 458.3030, Calcd for $C_{28}H_{42}O_5$ 458.3032.

결과 및 고찰

화합물 1-9는 Liebermann-Burchard 반응에 양성을 나타내는 것으로 보아 모두 triterpenoid로 추정되었다. 이들 화합물 중 화합물 3-6의 4종은 이미 작약으로부터 분리 보고된 betulinic acid (3),⁴⁾ oleanolic acid (4),^{3,4)} hederagenin (5)^{3,4)} 및 30-norhederagenin (6)⁴⁾로 확인되었다. 화합물 1은 oleanane계로 ¹H-NMR spectrum에서 8개의 angular CH₃기가 각각 singlet로 나타나며, δ 3.22에서 H-3 (dd, $J=4.5, 10.2$ Hz), δ 5.18에서 전형적인 H-12 (t, $J=3.6$ Hz) signal들이 나타나는 것으로 보아 β-amyrin으로 추정하였다. 또한 EI-MS에서 $[M]^+$ 이 m/z 426에서 나타나며, retro Diels-Alder fragmentation에 의해 $[D/E \text{ ring}]^+$ 이 m/z 218에서 base peak로 나타나는 것으로 이를 확인⁶⁾ 하였으며 표준품과 직접적으로 비교하여 확정하였다. 화합물 2의 IR spectrum을 보면 3431 cm⁻¹에서 OH, 887 cm⁻¹에서 exo-methylene (C=CH₂)으로 추정되는 흡수band들이 나타나고 있다. ¹H-NMR spectrum을 보면 고자장 영역인 δ 0.33 ($J=4.2$ Hz), 0.56 ($J=4.2$ Hz)에서 각각 doublet로 cyclopropane ring의 전형적인 methylene signal이 나타나고, δ 0.81 (3H), 0.90 (3H) 및 0.97 (6H)에서 4개의 angular methyl group, δ 0.89 (3H), 1.02 (3H) 및 1.03 (3H)에서 3개의 secondary methyl group에 기인하는 signal들을 확인할 수 있었으며, δ 4.66 (1H)과 4.72 (1H)에서 exo-methylene에 기인한 signal들을 확인할 수 있었으므로 이 화합물은 이미 동속식물인 *P. japonica*의 callus로부터 분리 보고된 바 있는 24-methylenecycloartanol (2)⁷⁾임을 알았다. ¹³C-NMR spectrum에서도 δ 105.9와 156.9에서 exo-methylene의 특징적인 signal들을 확인할 수 있었으며, EI-MS spectrum에서도 $[M]^+$ 이 m/z 440에서, 전형적인 cycloartane계열의 fragment ion들이 각각 m/z 315, 300 및 175 등에서 나타남을 확인⁸⁾할 수 있었으므로 이를 24-methylenecycloartanol (2)으로 확정하였다. 화합물 7의 NMR data는 30-norhederagenin (6)과 매우 유사하다. ¹H-NMR spectrum을 보면 δ 1.00, 1.04, 1.05 및 1.15에서 4개의 CH₃ singlet signal들이 나타나며, δ 4.72와 4.77에서 각각 broad singlet로 나타나는 exo-methylene signal들이 나타나고 있다. 이 외에도 δ 3.71과 4.21에서 각각 doublet ($J=10.5$ Hz)로 나타나는 H-23 hydroxymethyl signal, δ 4.23에서 doublet ($J=9.3$ Hz)로 나타나는 H-3 methine

proton signal 이외에 δ 4.23 (1H, ddd, $J=3.6, 9.3, 14.1$ Hz)에서 특징적인 또 하나의 hydroxymethine signal이 나타남을 알았다. EI-MS에서도 30-norhederagenin (6)보다 하나의 OH가 더 존재하며, 30-norhederagenin (6)과 같이 $[D/E \text{ ring}]^+$ 에 기인하는 fragment ion이 m/z 232에서 나타나는 것으로 보아 또 하나의 OH는 A/B ring 쪽에 있음이 확실하였다. 이는 Table I에서 볼 수 있는 바와 같이 B-E ring의 ¹³C chemical shift는 30-norhederagenin (6)과 일치하는 것으로도 증명할 수 있었다. 따라서 A ring에 존재하는 OH는 C-2에 α-결합 즉 equatorial로 결합하고 있음을 δ 4.23 (1H, ddd, $J=3.6, 9.3, 14.1$ Hz)에서 나타나는 H-2의 J 값 (9.3 Hz)으로 결정할 수 있었으므로 화합물 7은 30-norarjunolic acid⁹⁾로 결정하였다. 이 화합물의 A/B/C ring에 해당하는 ¹³C chemical shift가 arjunolic acid^{10,11)}와 일치하는 것으로도 이를 증명할 수 있었다. 화합물 8은 hederagenin (5)과 매우 유사하나 하나의 secondary OH에 기인하는 ¹³C-NMR signal이 δ 68.9에서 나타나는 것으로 보아 arjunolic acid로 추정하고 이를 직접적으로 비교하여 확인^{10,11)}할 수 있었다. 화합물 9는 고분해능 EI-MS에서 $[M]^+$ 이 m/z 458.3030에서 나타나고 있는 것으로 보아 분자식이 $C_{28}H_{42}O_5$ 임을 알았다. 또한 δ 1.10, 1.19 및 1.37에서 3개의 CH₃기에 의한 singlet signal이 나타나며, 전형적인 H-12와 H-18에 기인한 signal들이 각각 δ 5.51 (1H, t, $J=3.3$ Hz)과 3.23 (1H, dd, $J=4.5, 13.5$ Hz)에서 나타나고 있는 것으로 보아 norolean-12-en type의 구조를 갖는 화합물로 추정되었다. 이 외에도 δ 4.05와 4.36 (1H each, d, $J=10.2$ Hz)에서 oxygenated methylene signal, δ 4.28 (1H, dd, $J=5.1, 11.4$ Hz)에서 하나의 oxymethine proton signal, δ 4.73과 4.78에서 각각 exo-methylene에 기인하는 signal들이 나타나고 있는 것으로 보아 화합물 6 및 7과 같이 30-noroleane임을 추정할 수 있었다. EI-MS spectrum을 보면 $[M]^+$ 이 m/z 458에서 나타나며, retro Diels-Alder

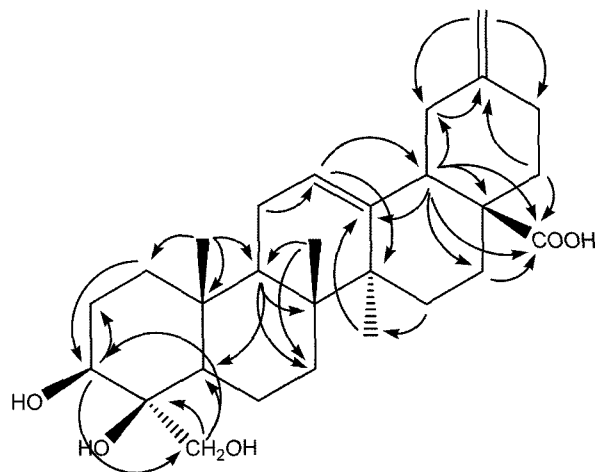


Fig. 1. Key HMBC correlations of 9.

fragmentation에 의해 [D/E ring]⁺이 *m/z* 232에서 나타나는 것으로 보아 D/E ring이 30-norhederagenin (6) 및 30-norarjunolic acid (7)과 동일함을 알 수 있었다. 또한 하나의 일급 OH와 하나의 이급 OH는 A/B ring 쪽에 있음이 확실하며, A/B ring에 존재하는 angular CH₃기 가운데 하나의 CH₃기가 탈리되어 있음을 알 수 있었다. DEPT spectrum에서 통상 40 ppm 부근에서 나타나고 있는 C-4 quaternary C signal이 나타나지 않고 δ 75.8에서 oxygenated quaternary C로 나타나고 있는 것으로 보아 C-4에 있던 24-CH₃기가 탈리되고 여기에 OH기가 결합되어 있는 것으로 추정되었다. 또한 Fig. 1에 표시한 바와 같이 HMBC spectrum에서 δ 75.8에서 나타나는 oxygenated quaternary C이 hydroxymethyl group의 proton과 correlation하고 있으므로 이를 확인할 수 있었다. 따라서 화합물 9의 화학구조는 3β,4β,23-trihydroxy-24,30-dinorolean-12,20(29)-dien-28-oic acid로 결정하였다. 이 화합물은 동속식물인 *P. delavayi*¹²⁾로부터 분리 보고된 화합물과 일치함을 알았다. 지금까지 보고된 *Paeonia*속 식물로부터 분리 보고된 triterpenoid 계열의 화합물들 가운데 norolean-12-ene 화합물들이 다수 보고되었다. 즉 *P. delavayi*로부터 분리 보고된 3β,4β,23-trihydroxy-24,30-dinorolean-12-ene-28-oic acid¹²⁾, *P. emodi*로부터 분리된 1β,3β,5α,23,24-pentahydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid¹³⁾, *P. japonica*의 callus로부터 분리한 30-norhederagenin⁷⁾, *P. veitchii*에서 분리한 paeonenoide A, B 및 C 등¹⁴⁾이 알려져 있으며, 금번 작약으로부터도 norolean-12-ene 화합물들이 분리 확인된 것은 chemotaxonomy의 관점에서 흥미있는 일로 사료되었다.

결 론

경북 의성에서 재배된 작약으로부터 9종의 triterpenoid 계열의 화합물들을 단리하여 각각 β-amyrin (1), 24-methylenecycloartanol (2), betulinic acid (3), oleanolic acid (4), hederagenin (5), 30-norhederagenin (6), 30-norarjunolic acid (7), arjunolic acid (8), 및 3β,4β,23-trihydroxy-24,30-dinorolean-12,20(29)-dien-28-oic acid (9)로 결정하였다. 이 중 β-amyrin (1), 24-methylenecycloartanol (2), 30-norarjunolic acid (7), arjunolic acid (8) 및 3β,4β,23-trihydroxy-24,30-dinorolean-12,20(29)-dien-28-oic acid (9) 등 5종은 모두 작약으로부터 최초로 분리된 화합물들이다.

사 사

본 연구는 식품의약품안전청 과제인 한약재 평가기술과 학화연구사업중 “한약재 생리활성성분 분리 및 효능유전자 확인연구: 작약, 황기” 과제의 일환으로 수행되었다. 또한

BK21사업에 의해 일부 지원되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Yean, M. H., Lee, J. Y., Kim, J. S. and Kang, S. S. (2008) Phytochemical studies on *Paeoniae Radix* (1) - Monoterpene glucosides. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 19-27.
2. Kim, J. S., Kim, Y. J., Lee, J. Y. and Kang, S. S. (2008) Phytochemical studies on *Paeoniae Radix* (2) - Phenolic and related compounds. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 28-36.
3. Kang, S. S., Kim, J. S., Yun-Choi, H. S. and Han, B. H. (1993) Phytochemical studies on *Paeoniae Radix*. *Kor. J. Pharmacogn.* **24**: 247-250.
4. Kamiya, K., Yoshioka, K., Saiki, Y., Ikuta, A. and Satake, T. (1997) Triterpenoids and flavonoids from *Paeonia lactiflora*. *Phytochemistry* **44**: 141-144.
5. Ikuta, A., Kamiya, K., Satake, T. and Saiki, Y. (1997) Triterpenoids from callus tissue cultures of *Paeonia* species. *Phytochemistry* **38**: 1203-1207.
6. Budzikiewicz, H., Wilson, J. M. and Djerassi, C. (1963) Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. Pentacyclic triterpenes. *J. Am. Chem. Soc.* **85**: 3688-3699.
7. Ikuta, A. and Itokawa, H. (1988) Triterpenoids of *Paeonia japonica* callus tissue. *Phytochemistry* **27**: 2813-2815.
8. Anjaneyulu, A. S. R. and Nooka Raju, S. (1987) Cyclotriterpenes from the heartwood of *Pterospermum heyneanum*. *Phytochemistry* **26**, 2805-2810.
9. Higuchi, R. and Kawasaki, T. (1976) Pericarp saponins of *Akebia quinata* Decne. II. Arjunolic and norarjunolic acids, and their glycosides. *Chem. Pharm. Bull.* **24**: 1314-1323.
10. Mimaki, Y., Kuroda, M., Yokosuka, A., Harada, H. Fukushima, M. and Sashida, Y. (2003) Triterpenes and triterpene saponins from the stems of *Akebia trifoliata*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**: 960-965.
11. Takemoto, T., Arihara, S., Yoshikawa, K., Kusumoto, K., Yano, I. and Hayashi, T. (1984) Studies on the Constituents of Cucurbitaceae plants. VI. On the saponin constituents of *Luffa cylindrica* Roem. (1). *Yakugaku Zasshi* **104**: 246-255.
12. Wu, S. H., Luo, X. D., Hao, X. J. and Wu, D. G. (2001) A new 24,30-dinortriterpenoid from *Paeonia delavayi*. *Chin. Chem. Lett.* **12**: 345-346.
13. Nawaz, H. R., Malik, A., Khan, P. M., Shujaat, S. and Atta-ur-Rahman (2000) A novel glucuronidase inhibiting triterpenoid from *Paeonia emodi*. *Chem. Pharm. Bull.* **48**: 1771-1773.
14. Wu, S.-H., Yang, S.-M., Wu, D.-G., Cheng, Y.-W. and Peng, Q. (2005) Three novel 24,30-dinortriterpenoids, paeonenoide A-C, from *Paeonia veitchii*. *Helv. Chim. Acta* **88**: 259-265.

(2008년 1월 21일 접수)