

## 식용식물자원에서부터 활성물질의 탐색-XXII. 사자발쑥 (*Artemisia princeps* PAMPANINI)의 지상부로부터 Triterpenoid의 분리

방면호 · 조진경<sup>1</sup> · 송명종<sup>1</sup> · 이대영<sup>1</sup> · 한민우<sup>1</sup> · 정해근<sup>2</sup> · 정태숙<sup>3</sup> · 이경태<sup>4</sup> · 최명숙<sup>5</sup> · 백남인<sup>1,\*</sup>

경희대학교 피부생명공학센터, <sup>1</sup>경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터, <sup>2</sup>강화군 특화작목연구소, <sup>3</sup>한국생명공학연구원 지질대사연구실, <sup>4</sup>경희대학교 약학대학 약품생화학교실, <sup>5</sup>경북대학교 식품영양학과

## Development of Biologically Active Compounds from Edible Plant Sources XXII. Triterpenoids from the Aerial Parts of Sajabalssuk (*Artemisia princeps* PAMPANINI)

Myun-Ho Bang, Jin-Gyeong Cho<sup>1</sup>, Myoung-Chong Song<sup>1</sup>, Dae-Young Lee<sup>1</sup>, Min-Woo Han<sup>1</sup>,  
Hae-Gon Chung<sup>2</sup>, Tae-Sook Jeong<sup>3</sup>, Kyung-Tae Lee<sup>4</sup>, Myung-Sook Choi<sup>5</sup> and Nam-In Baek<sup>1,\*</sup>

Skin Biotechnology Center, Suwon 443-270, Korea

<sup>1</sup>The Graduate School of Biotechnology & Plant Metabolism Research Center, Suwon 446-701, Korea

<sup>2</sup>Ganghwa Agricultural R&D Center, Incheon 417-833, Korea

<sup>3</sup>National Research Laboratory of Lipid Metabolism & Atherosclerosis,

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

<sup>4</sup>Department of Biochemistry, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

<sup>5</sup>Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

Received February 26, 2008; Accepted September 2, 2008

The aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia princeps* PAMPANINI, Sajabalssuk) was extracted with 80% aqueous MeOH, and the concentrated extract was partitioned with EtOAc, *n*-BuOH and H<sub>2</sub>O, successively. From the EtOAc fraction, three cycloartane-type triterpenoids and one ursane-type triterpenoid were isolated through the repeated silica gel, ODS and Sephadex LH-20 column chromatographies. From the results of physico-chemical data including NMR, MS and IR, the chemical structures of the triterpenoids were determined as wrightial (1), wrightial acetate (2), 27-norcycloart-20(21)-ene-25- $\alpha$ -3 $\beta$ -ol acetate (3) and ursolic acid (4). No report has been found for isolation of compound 3 in the literature so far, and compounds 1, 2 and 3 were the first to be isolated from Sajabalssuk (*Artemisia princeps* PAMPANINI, Sajabalssuk). Also, compound 1 showed Acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase (hACAT-1) and hACAT-2 inhibitory activity with the IC<sub>50</sub> values of 33.0 and 45.0  $\mu$ g/ml, respectively. Compounds 2 and 3 inhibited hACAT-1 activity with the IC<sub>50</sub> values of 12.0 and 16.0  $\mu$ g/ml, respectively.

**Key words:** Acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase (ACAT), *Artemisia princeps* PAMPANINI Sajabalssuk, wrightial, wrightial acetate, 27-norcycloart-20(21)-ene-25- $\alpha$ -3 $\beta$ -ol acetate, ursolic acid

### 서 론

*Artemisia*속에 속하는 쑥은 우리나라 산야의 전 지역에서 자생하는 번식력이 강한 여러해살이풀로 분류학적으로는 국화과 (Compositae)에 속하는 다년생 초본이다. 우리나라 자생종만도 약 300여종이 분포하는 것으로 알려져 있으며,<sup>1)</sup> 예로부터 민간 요법을 통해 다양한 효능이 알려져 주요 약용식물로 널리 사용

되어 왔다. 특히 한방에서 만성위장병, 하복부통, 천식, 구토, 지혈, 구충 및 악취 제거에 효과가 있다고 알려져 왔다.<sup>2)</sup> 최근에는 쑥의 독특한 향과 효능 때문에 식품 및 제약 산업에 응용하고자 하는 연구가 활발히 이루어지고 있다.<sup>3)</sup>

강화 사자발쑥(*Artemisia princeps* PAMPANINI)은 강화도 지역에서 주로 자생하며, 식물학적으로 약쑥인 *Artemisia asiatica* 또는 *A. princeps*와 유사한 것으로 알려져 있다. 잎은 넓고 짙은 녹색으로 사자발 모양으로 갈라져 마디마디 착생하며 뒷면에 흰털이 밀생하고 특유의 향을 발한다. 키는 70 cm 내외로 곧게 자라며, 7-9월에 3 mm 정도의 이삭모양의 붉은빛을 띤 연보라 빛 꽃이 핀다.<sup>3)</sup> 효능으로는 소염제, 진통제, 감심

\*Corresponding author

Phone: +82-31-201-2661; Fax: +82-31-201-2157

E-mail: nibaek@khu.ac.kr

제, 진해제 및 흡입제 등으로 쓰이며, 주요 약리작용으로는 항균 작용이 알려져 있다.<sup>4)</sup>

지금까지 약쭈(*A. asiatica*, *A. princeps*)으로부터 다양한 성분들이 분리 보고 되어 있지만, 강화지역에 자생하고 있는 사자발쭈로부터는 cineole, camphor 및 borneol 등의 정유(精油) 성분을 GC/MS로 분석한 결과<sup>4)</sup>와 flavonoid인 eupatilin, jaceosidin, apigenin, eupafolin과<sup>5,6)</sup> sterol인  $\beta$ -sitosterol, ergosterol peroxide, daucosterol, stigmasterol 등<sup>7)</sup>이 분리 보고되어 있다. 본 연구에서는 사자발쭈의 식물 화학적 성분연구의 결과로 3종의 cycloartane-type triterpenoid와 1종의 ursane-type triterpenoid를 분리, 동정하였다. 그 중에 1종의 cycloartane-type triterpenoid는 천연에서 처음 분리 보고된 것이며, 다른 3종의 triterpenoid도 사자발쭈에서는 처음 분리된 것이다. 이 화합물들에 대하여 고지혈증과 관련 있는 Acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase (ACAT1), ACAT2 효소의 억제 활성을 측정하였는데, 그 중 3종에서는 유의한 억제활성이 나타났다.

## 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에 사용한 사자발쭈는 수확 후 2년간 실온에서 보관한 것을 2005년 10월 강화군농업기술센터로부터 제공받았고, 단국대학교 분자생물학과 피재호 박사가 동정하였으며, 표본시료(KHU-051020)는 경희대학교 생명공학원 천연물화학실에 보관되어 있다.

**시약 및 기기.** Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck, Darmstadt, Germany)을 octadecyl silica(ODS) gel은 LiChroprep RP-18(Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였고, Sephadex LH-20(Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)을 사용하였다. Thin layer chromatography(TLC)는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub>와 RP-18 F<sub>254S</sub>를 사용하였고, TLC상의 물질 검출에는 UV lamp와 10% aq. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였다. 시료의 추출과 분획에 사용한 유기 용매는 대정화학주식회사에서 생산한 1급 시약을 사용하였다. Nuclear magnetic resonance(NMR) spectrum은 Varian Inova AS 400(Varian, California, USA)으로 측정하였고, Infrared(IR) spectrum은 Perkin model 599B(Perkin-Elmer, Massachusetts, USA)로 측정하였다. 녹는점은 Fisher-John's Melting Point Apparatus(Fisher Scientific, Miami, USA)로 측정하였으며, Electron ionization/Mass spectrometer(EI/MS)는 JMS-700(JEOL, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. UV lamp는 Spectroline(Model ENF-240 C/F, Spectronics Corporation, New York, USA)을 사용하였으며, 비선광도는 Polarimeter P-1020(JASCO, Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

**사자발쭈 지상부의 용매 추출 및 분획.** 건조한 사자발쭈 지상부 2.4 kg을 80% MeOH 수용액(15 l)에 24시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과하고, 남은 것은 동일한 방법으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합쳐 감압농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. 얻어진 MeOH 추출물을 물과 ethyl acetate(EtOAc, 2 l×2)로 분배 추출하였으며, 물층은 다시 *n*-butanol(*n*-BuOH, 2 l×2)로 분배 추출하였다. 각층을 감압농축하여 EtOAc 분획(SJBE, 47 g), *n*-BuOH 분획(SJBB, 55 g)과 물

분획(SJBW, 35 g)을 얻었다.

**사자발쭈로부터 triterpenoid의 분리.** EtOAc 분획(47 g)으로부터 silica gel column chromatography(c.c.)( $\phi$  7×21 cm, *n*-hexane-EtOAc=7:1→5:1→3:1→1:1→CHCl<sub>3</sub>-MeOH=10:1→7:1→5:1→3:1→1:1)를 실시하여 20개의 분획물(SJBE-1~SJBE-20)을 얻었다. 위에서 얻어진 SJBE-6[393 mg,  $V_e/V_t$  (elution volume/total volume) 0.01-0.03] 분획을 ODS c.c.( $\phi$  3×10 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=2:1)로 정제하여 화합물 1[SJBE-6-8, 7 mg,  $V_e/V_t$  0.25-0.30, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) MeOH-H<sub>2</sub>O=5:1,  $R_f$  0.25], 화합물 2[SJBE-6-11, 8 mg,  $V_e/V_t$  0.43-0.50, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) MeOH-H<sub>2</sub>O=3:1,  $R_f$  0.65]과 화합물 3[SJBE-6-13, 11 mg,  $V_e/V_t$  0.70-0.81, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) MeOH-H<sub>2</sub>O=3:1,  $R_f$  0.4]를 얻었다. 또한 SJBE-11(344 mg,  $V_e/V_t$  0.29-0.33) 분획을 ODS c.c.( $\phi$  3.5×11 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=2:1)로 정제하여 19개의 분획물(SJBE-11-1~11-19)을 얻었다. 그리고 SJBE-11-16(57 mg,  $V_e/V_t$  0.56-0.65) 소분획을 ODS c.c.( $\phi$  3×7 cm, MeOH-H<sub>2</sub>O=3:1)로 정제하여 5개의 분획물(SJBE-11-16-1~11-16-5)을 얻었고, 다시 SJBE-11-16-3(37 mg,  $V_e/V_t$  0.43-0.51) 분획물을 Sephadex LH-20 c.c.( $\phi$  1×40 cm, *n*-hexane-EtOAc=7:1)로 정제하여 화합물 4[SJBE-11-16-3-2, 19 mg,  $V_e/V_t$  0.3-0.49, TLC(RP-18 F<sub>254S</sub>) MeOH-H<sub>2</sub>O=3:1,  $R_f$  0.55]를 분리하였다.

화합물 1(wrightial): white solid(CHCl<sub>3</sub>); m.p. 99°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +18.33°(c=1.01, MeOH); EI/MS  $m/z$ (70 eV): 400[M]<sup>+</sup>, 383, 339, 325, 313, 260, 175, 149, 43; IR(KBr,  $\nu$ ) 3,420, 2,920, 2,780, 1,715, 1,440, 1,370, 1,040 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_{H}$ ) 9.75(1H, br. s, H-24), 3.20(1H, m, H-3), 0.95(3H, s, H-30), 0.87(6H, s, H-29, 18), 0.86(3H, d,  $J$ =6.0 Hz, H-21), 0.79(3H, s, H-28), 0.53(1H, d,  $J$ =4.0 Hz, H-19a), 0.31(1H, d,  $J$ =4.0 Hz, H-19b); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_C$ ) 203.08(C-24), 78.81(C-3), 52.18(C-17), 48.85(C-14), 47.50(C-8), 47.12(C-5), 45.38(C-13), 40.52(C-4), 35.72(C-20), 35.57(C-15), 32.92(C-12), 32.02(C-1), 31.29(C-22), 30.42(C-2), 29.94(C-19), 28.30(C-16), 28.15(C-23), 26.47(C-11), 26.14(C-10), 26.06(C-7), 25.50(C-29), 21.18(C-6), 20.00(C-9), 19.39(C-28), 18.14(C-21), 18.08(C-18), 14.08(C-30).

화합물 2(wrightial acetate): m.p. 158~160°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +25.10°(c=1.01, MeOH); EI/MS  $m/z$ (70 eV): 442[M]<sup>+</sup>, 171, 117, 115, 103, 101, 91, 89, 79, 77, 65; IR(KBr,  $\nu$ ) 2,700, 1,720, 1,255 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_{H}$ ) 9.75(1H, br. s, H-24), 4.54(1H, m, H-3), 2.03(3H, s, acetyl methyl-H), 0.94(3H, s, H-29), 0.87(3H, s, H-30), 0.87(3H, s, H-29,18), 0.83(3H, d, 6.0, H-21), 0.79(3H, s, H-28), 0.55(1H, d,  $J$ =4.0 Hz, H-19a), 0.32(1H, d,  $J$ =4.0 Hz, H-19b); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta_C$ ) 203.05(C-24), 170.83(acetyl carbonyl-C), 80.60(C-3), 52.11(C-17), 48.82(C-14), 47.80(C-8), 47.14(C-5), 45.33(C-13), 41.20(C-4), 35.68(C-20), 35.48(C-15), 32.84(C-12), 32.02(C-1), 31.62(C-22), 29.78(C-19), 28.25(C-16), 28.11(C-23), 26.82(C-11), 26.45(C-10), 26.00(C-7), 25.45(C-29), 21.40(C-6), 21.17(acetyl methyl-C), 20.94(C-9), 20.10(C-28), 19.33(C-21), 18.06 (C-18), 15.19(C-30).

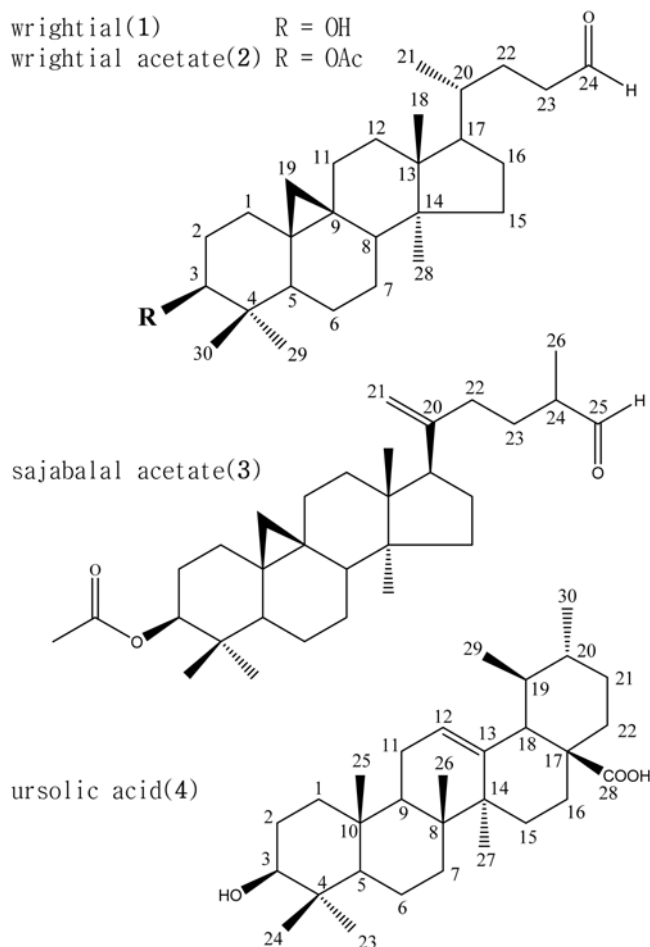


Fig. 1. Chemical structures of triterpenoids from the aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia princeps* PAMPANINI).

화합물 3(27-norcycloart-20(21)-ene-25-al-3 $\beta$ -ol acetate, sajabalal acetate): white powder (EtOH); IR(KBr,  $\nu$ ) 2,700, 1,724, 1,680, 1,615  $\text{cm}^{-1}$ ; EI/MS  $m/z$ (70 eV): 468; HREIMS  $m/z$  found 468.3609, calcd 468.3605 for  $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_3$ ;  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ) 9.76(1H, br. s, H-25), 4.77(1H, br. s, H-21a), 4.63(1H, br. s, H-21b), 4.45(1H, br. s, H-3), 2.01(3H, br. s, acetyl methyl-H), 1.22(3H, br. s, H-28), 1.07(3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-18) 0.95(3H, br. s, H-30), 0.85(3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.83(3H, br. s, H-29), 0.55(1H, d,  $J=4.0$  Hz, H-19a), 0.32(1H, d,  $J=4.0$  Hz, H-19b);  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) 202.09(C-25), 170.74(acetyl carbonyl-C), 150.49 (C-20), 107.93(C-21), 80.70(C-3), 55.77(C-17), 50.64(C-14), 49.28(C-5), 47.65(C-8), 45.16(C-13), 42.08(C-4), 40.33(C-12), 38.62(C-15), 37.76(C-1), 36.99(C-22), 35.17(C-19), 31.18(C-23), 29.60(C-7), 28.76(C-22), 27.85(C-2), 26.14(C-16), 24.75 (C-11), 23.57(C-10), 21.24(acetyl methyl-C), 21.23(C-6), 21.21 (C-28), 18.04(C-9), 16.40(C-24), 16.18(C-29), 15.77(C-18), 15.54(C-30), 14.03(C-26).

화합물 4(ursolic acid): colorless needles( $\text{CHCl}_3$ ); m.p. 279-281 $^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +66.0^{\circ}$ ( $c=1.2$ , MeOH); EI/MS  $m/z$ (70 eV):

456[M] $^{+}$ , 247, 203, 189, 133; IR(KBr,  $\nu$ ) 3,440, 2,940, 1,700, 1,690  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta_{\text{H}}$ ) 5.47 (1H, br. s, H-12), 3.45(1H, dd,  $J=9.6, 6.0$  Hz, H-3), 1.24(3H, s, H-23), 1.23(3H, s, H-27), 1.04(3H, s, H-26), 1.02(3H, s, H-24), 1.01(3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-30), 0.96(3H, d,  $J=6.4$  Hz, H-29), 0.87(3H, s, H-25);  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) 179.87(C-28), 139.25(C-13), 125.61(C-12), 78.18(C-3), 55.91(C-5), 53.65(C-18), 48.15(C-9), 42.61(C-17), 42.61(C-14), 40.07(C-8), 39.61(C-4), 39.52(C-19), 39.50(C-20), 39.19(C-1), 37.58(C-10), 37.40(C-22), 33.70(C-7), 31.21(C-21), 28.94(C-15), 28.82(C-23), 28.30(C-2), 25.05(C-16), 24.05(C-27), 23.76(C-11), 21.56 (C-30), 18.93(C-6), 17.68(C-29), 17.61(C-26), 16.74(C-24), 15.83(C-25).

## 결과 및 고찰

사자발쑤는 약쑤(*Artemisia asiatica* 또는 *A. princeps*)과 유사한 것으로 알려져 있으나 최근 단국대학교의 피재호 박사는 서해안 일대에 자생하는 180여종의 약쑤와 사자발쑤의 유전자 배열 차이와 외부형태적인 특성, 즉 생육초기, 중기 및 개화기 등의 특성 차이를 비교하여 사자발쑤이 약쑤과는 생물학적으로 상이하다는 것을 입증하였다. 사자발쑤 전초로부터 얻어진 MeOH 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및  $\text{H}_2\text{O}$ 로 순차 분획하고 각 분획은 감압 농축하여 3개의 분획을 얻었다. EtOAc 분획으로부터 silica gel, ODS와 Sephadex LH-20 column chromatography로 정제하여 화합물 1, 2, 3, 4를 분리하였다.

화합물 1(white solid)은 IR spectrum에서 수산기의 흡수( $3,420 \text{ cm}^{-1}$ )와 aldehyde의 흡수( $1,715 \text{ cm}^{-1}$ )가 관측되었으며, 분자량은 EI/MS spectrum에서 분자이온피크로부터  $400[\text{M}]^{+}$ 으로 결정하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서 aldehyde signal( $\delta_{\text{H}}$  9.75, 1H, br. s, H-24) 1개와 oxygenated methine signal( $\delta_{\text{H}}$  3.20, 1H, m, H-3) 1개가 관측되었으며, 고자장 영역에서 doublet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.86, 3H, H-21) 1개와 singlet methyl proton signal( $\delta_{\text{H}}$  0.95(3H, H-29), 0.87(6H, H-30, H-18), 0.79(3H, H-28)] 4개를 포함해서 총 5개의 methyl proton signal이 관측되었다. 또한  $\delta_{\text{H}}$  0.53(1H, d,  $J=4.0$  Hz, H-19a)와  $\delta_{\text{H}}$  0.31(1H, d,  $J=4.0$  Hz, H-19b) signal이 관측되어 geminal coupling을 보이는 cyclopropyl기의 methylene이 존재하는 것으로 추정하였다.  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum과 DEPT에서 27개의 탄소 signal이 관측되었으며,  $\delta_{\text{C}}$  203.08에서 aldehyde carbon signal이 관측되었고,  $\delta_{\text{C}}$  78.81에서 1개의 oxygenated methine signal이 관측되었다. 또한 고자장 영역인  $\delta_{\text{C}}$  25.50(C-29),  $\delta_{\text{C}}$  19.39(C-28),  $\delta_{\text{C}}$  18.14(C-21),  $\delta_{\text{C}}$  18.08(C-18),  $\delta_{\text{C}}$  14.08(C-30)에서 methyl carbon 5개가 관측되었다. 이 결과를 종합하고 문헌과 비교 조사해본 결과 이 화합물을 wrightial<sup>8-10</sup>로 동정하였다. 이 화합물은 *Wrightia tinctoria*과 *Euphorbia tuckeyana*에서 분리 보고 되어있으며, side chain에서 3분자가 산화 탈리되어 2개로 이뤄진 triterpenoid임을 확인하였다.<sup>8-10</sup>

화합물 2(white solid)는 IR spectrum에서 carbonyl과 aldehyde의 흡수( $1,715\text{ cm}^{-1}$ )가 관측되었으며, 분자량은 EI/MS spectrum에서 분자이온피크로부터  $430[M]^+$ 으로 결정하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 및  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum은 wrightial(1)과 매우 유사하였으며, acetyl기의 signal [ $\delta_{\text{H}}$  2.03(3H, s, acetyl methyl),  $\delta_{\text{C}}$  170.83(acetyl carbonyl), 21.17(acetyl methyl)] 이 더 관측되었다. 화합물 1에서 관측된 oxygenated methine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  3.20, 1H, m, H-3)이  $\delta_{\text{H}}$  4.54(1H, m, H-3)에서 관측되었고, oxygenated methine carbon signal( $\delta_{\text{C}}$  78.81, C-3)이  $\delta_{\text{C}}$  80.60(C-3)에서 관측되어 ester화에 의한 저자장 shift가 인정되었다. 이를 종합하여 분석한 결과 화합물 2는 wrightial(1)의 C-3에 acetyl기가 결합한 wrightial acetate<sup>11-14)</sup> 구조로 동정하였다. 화합물 2는 *Mangifera indica*, *Euphorbia broteri*에서 분리 보고 되었다.<sup>11-14)</sup>

화합물 3(white powder)은 IR spectrum에서 carbonyl과 aldehyde의 흡수( $1,724\text{ cm}^{-1}$ ), 이중결합( $1,680\text{ cm}^{-1}$ )의 흡수가 관측되었다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum의 저자장 영역에서 1개의 aldehyde( $\delta_{\text{H}}$  9.76, 1H, br. s, H-25)와 1개의 exomethylene( $\delta_{\text{H}}$  4.77(1H, s, H-21a), 4.63(1H, s, H-21b))과 esterification 효과에 의하여 저자장으로 shift되어 관측된 oxygenated methine( $\delta_{\text{H}}$  4.45, 1H, s, H-3) proton signal이 관측되었다. 고자장 영역에서 1개의 acetyl methyl( $\delta_{\text{H}}$  2.01, 3H, s, H-32), 4개의 singlet methyl [ $\delta_{\text{H}}$  0.95(3H, s, H-30), 1.22(3H, s, H-28), 1.07(3H, s, H-18), 0.83(3H, s, H-29)], 1개의 doublet methyl( $\delta_{\text{H}}$  0.85, 3H, d,  $J=6.8\text{ Hz}$ , H-26)과 cyclopropane 구조의 methylene( $\delta_{\text{H}}$  0.55(1H, d,  $J=4.0\text{ Hz}$ , H-19a), 0.32(1H, d,  $J=4.0\text{ Hz}$ , H-19b)] proton signal이 관측되어 cycloartane 골격의 triterpene 화합물로 추정되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) spectrum에서 31개의 탄소 signal이 관측되었으며, 1개의 acetyl 유래의 signal [ $\delta_{\text{C}}$  170.74(acetyl carbonyl), 21.24(acetyl methyl)] 외에 aldehyde( $\delta_{\text{C}}$  202.09, C-25), olefine quaternary( $\delta_{\text{C}}$  150.49, C-20), exomethylene( $\delta_{\text{C}}$  107.93, C-21), oxygenated methine( $\delta_{\text{C}}$  80.70, C-3), 5개의 methyl [ $\delta_{\text{C}}$  21.21(C-28), 16.18(C-29), 15.77(C-18), 15.54(C-30), 14.03(C-26)] carbon signal이 관측되었다. 이를 종합하여 분석한 결과 27-norcycloart-20(21)-ene-25-al-3 $\beta$ -ol acetate로 구조를 추정하였다. Exomethylene의 위치는 cycloart-20-ene-3 $\beta$ ,25-diol의 C-17, C-20, C-21 및 C-22 의 chemical shift<sup>15)</sup>와 비교하여 C-21 탄소로 결정하였다. 또한 aldehyde의 위치는 norcycloartane 골격의 유사한 화합물 dihydroschizandronic acid<sup>16)</sup>와 NMR을 비교하여 C-25로 결정하였다. 화합물 3은 현재까지 천연에서 분리된 적이 없는 신물질로 판명되어 sajabalal acetate로 명명하였다.

화합물 4(white powder)는 TLC에 전개시켜 관찰한 결과 UV 흡수가 없고 10% aq.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 로 분무 가열하였을 때 붉은색으로 발색되었다. IR spectrum에서 수산기의 흡수( $3,440\text{ cm}^{-1}$ )와 carboxyl( $1,699\text{ cm}^{-1}$ ), 이중결합( $1,670\text{ cm}^{-1}$ )의 흡수가 관측되었다. 분자량은 EI/MS spectrum에서 분자이온피크로부터  $454[M]^+$ 으로 결정하였다.  $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) spectrum에서 olefine proton signal( $\delta_{\text{H}}$  5.47, 1H, m, H-12) 1개와 oxygenated methine signal( $\delta_{\text{H}}$  3.45, 1H, dd,  $J=9.6, 6.0\text{ Hz}$ ,

H-3)이 관측되었으며, 고자장 영역에서 doublet methyl proton signal [ $\delta_{\text{H}}$  0.99(3H, d,  $J=6.8\text{ Hz}$ , H-30), 0.94(3H, d,  $J=6.8\text{ Hz}$ , H-29)] 2개와 singlet methyl proton signal [ $\delta_{\text{H}}$  1.23(3H, H-23), 1.21(3H, H-25), 1.04(3H, H-24), 1.01(3H, H-26), 0.87(3H, H-27)] 5개를 포함해서 총 7개의 methyl proton signal이 관측되었다.  $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) spectrum 및 DEPT에서 30개의 탄소 signal이 관측되었으며,  $\delta_{\text{C}}$  179.87(C-28)에서 carboxylic acid carbon과 olefine quaternary( $\delta_{\text{C}}$  139.25, C-13), olefine methine( $\delta_{\text{C}}$  125.61, C-12) carbon,  $\delta_{\text{C}}$  78.18(C-3)에서 1개의 oxygenated methine signal이 관측되었다. 고자장 영역에서  $\delta_{\text{C}}$  28.82(C-23),  $\delta_{\text{C}}$  24.05(C-27),  $\delta_{\text{C}}$  21.56(C-29),  $\delta_{\text{C}}$  17.68(C-24),  $\delta_{\text{C}}$  17.61(C-25),  $\delta_{\text{C}}$  16.74(C-26),  $\delta_{\text{C}}$  15.83(C-30) methyl carbon 7개가 관측되었다. 이를 종합하여 문헌과 비교한 결과 화합물 4는 식물에서 자주 발견되는 triterpenoid인 ursolic acid로 구조 동정하였다.<sup>17)</sup>

사자발쑃 지상부로부터 4종[wrightial(1), wrightial acetate(2), 27-norcycloart-20(21)-ene-25-al-3 $\beta$ -ol, acetate(3), ursolic acid(4)]의 화합물을 분리하여 구조를 확인 동정하였다. 화합물 3은 천연에서 처음으로 분리 보고되었으며, 화합물 1, 2, 4는 본 식물에서는 처음 분리 보고 되었다.

문헌에 의하면 화합물 1(wrightial)은 다중약재내성 및 임파종 세균의 apoptosis를 유도<sup>18)</sup>하는 것으로 보고되어 있으며, 화합물 4(ursolic acid)는 골수종세포의 증식억제<sup>19)</sup>, 여러 암세포의 apoptosis 유도<sup>20)</sup> 및 세포독성<sup>21)</sup>, 항종양 활성<sup>22)</sup> 등의 항암 활성<sup>23)</sup>이 보고되어 있고, 항균 활성<sup>24)</sup>, 항산화 활성<sup>25)</sup>, 항염 활성<sup>26)</sup> 등이 있는 것으로 알려져 있다. 각 화합물에 대하여 항고지혈증과 관련하여 ACAT 효소에 대한 억제 활성을 측정하였다. 화합물 1은 ACAT1과 ACAT2 효소에 대한  $\text{IC}_{50}$ 값이  $33\text{ }\mu\text{g}/\text{m}$ 와  $45\text{ }\mu\text{g}/\text{m}$ 로 나타났고, 화합물 2는 ACAT1 효소에 대하여  $\text{IC}_{50}$ 값이  $12\text{ }\mu\text{g}/\text{m}$ 로 나타났다. 화합물 3은 ACAT1 효소에 대하여  $\text{IC}_{50}$ 값이  $16\text{ }\mu\text{g}/\text{m}$ 으로 나타났다. 이번엔 이루어진 실험 결과로 화합물 1, 2, 3은 항고지혈증에 대하여 매우 유의성 있는 결과를 나타내어 앞으로 건강기능성 식품 또는 더 나아가 의약품의 소재로서의 충분한 가치가 있다고 여겨지며, 추후 이의 활용과 관련된 연구가 활발히 추진 될 것으로 기대된다.

## 초 록

사자발쑃의 지상부를 80% MeOH 용액으로 추출하고, 얻어진 추출물을 EtOAc, *n*-BuOH 및  $\text{H}_2\text{O}$ 로 용매 분획 하였다. 이 중 EtOAc 분획으로부터 silica gel과 octadecyl silica gel(ODS), Sephadex LH-20 column chromatography로 정제하여 4종의 triterpenoid를 분리하였다. 각 화합물의 화학구조는 NMR, MS 및 IR 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 wrightial(1), wrightial acetate(2), 27-norcycloart-20(21)-ene-25-al-3 $\beta$ -ol acetate(3) 및 ursolic acid(4)로 동정하였다. 이 화합물들은 사자발쑃에서 처음으로 분리 보고 되었으며 특히, 화합물 3은 천연에서 처음으로 분리 보고 되었다. 또한 이번엔 분리한 화합물에 대하여 항고지혈증 활성을 측정한 결과 화합물 1은 ACAT1과 ACAT2 효소에 대한  $\text{IC}_{50}$ 값이  $33\text{ }\mu\text{g}/\text{m}$ 와  $45\text{ }\mu\text{g}/\text{m}$ 로 나타났고, 화합물 2는

ACAT1 효소에 대하여 IC<sub>50</sub>값이 12 µg/ml로 나타났다. 화합물 3은 ACAT1 효소에 대하여 IC<sub>50</sub>값이 16 µg/ml로 나타났다.

**Key words:** 사자발쑤, *Artemisia princeps* PAMPANINI, wrightial, wrightial acetate, 27-norcycloart-20(21)-ene-25-al-3β-ol acetate, sajabalal acetate, ursolic acid, Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase (ACAT)

### 감사의 글

본 연구는 강화군에서 지원하는 강화 특화 작목의 생리활성 탐색 및 효능 검증 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Shin, D. H., In, J. G., Yu, S. R. and Choi, K. S. (2005) Investigation of medicinal substance from *in vitro* cultured cells and leaves of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **13**, 69-76.
- Cho, B. B., Lee, H. J. and Bang, S. K. (2004) Studies on amino acid, sugar analysis and antioxidative effect of extracts from *Artemisia* sp. *Korean J. Food Nutr.* **17**, 86-91.
- Lee, T. B. (2003) In coloured flora of Korea, Hyang Mun Sa, Seoul, Korea.
- Cho, Y. H. and Chiang, M. H. (2001) Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. *Kor. J. Intl. Agri.* **13**, 313-320.
- Ryu, S. N., Kang, S. S., Kim, J. S. and Ku, B. I. (2004) Quantitative analysis of eupatilin and jaceosidin in *Artemisia herba*. *Korean J. Crop Sci.* **49**, 452-456.
- Bang, M. H., Kim, D. H., Yoo, J. S., Lee, D. Y., Song, M. C., Yang, H. J., Jeong, T. S., Lee, K. T., Choi, M. S., Chung, H. G. and Baek, N. I. (2005) Isolation and identification of flavonoids from the aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia herba*). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**, 418-420.
- Bang, M. H., Chung, H. G., Song, M. C., Yoo, J. S., Chung, S. A., Lee, D. Y., Kim, S. Y., Jeong, T. S., Lee, K. T., Choi, M. S. and Baek, N. I. (2006) Isolation of sterols from the aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia herba*). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**, 140-144.
- Ferreira, M. J., Pinto, F. C. and Ascenso, J. R. (2001) Cycloartane triterpenes from *Euphorbia tuckeyana*. *Natural Product Research* **15**, 363-369
- Reiko, T., Kazuaki, K., Shunji, K., Harukuni, T., Hoyoku, N. and Shunto, Ma. (2000) Bioactive steroids from the whole herb of *Euphorbia chamaesyce*. *J. Nat. Prod.* **63**, 99-103.
- Ramchandra, P., Basheermiya, M., Krupadanam, G. L. D. and Srimannarayana, G. (1993) Wrightial, a new terpene from *Wrightia tinctoria*. *J. Nat. Prod.* **56**, 1811-1812.
- Gabriela, M. C., Mariana, G. and Alicia, M. S. (1996) Cycloartane Derivatives from *Tillandsia usneoides*. *J. Nat. Prod.* **59**, 343-347.
- Anjaneyulu, V., Harischandra, P. K., Ravi, K. and Connolly, J. D. (1985) Triterpenoids from *Mangifera indica*. *Pytochem.* **24**, 2359-2367.
- De Pascual, T. J., Urones, J. G., Marcos, I. S., Basabe, P., Sexmero, C., Maria J. and Fernandez, R. (1987) Triterpenes from *Euphorbia broteri*. *Phytochem.* **26**, 1767-1776.
- Singh, C. and Dev, S. (1977) Higher isoprenoids. V. Partial syntheses from cycloartenol, cyclolaudenol. Part 1. Mangiferolic acid, ambolic acid. *Tetrahedron* **33**, 817-819.
- Khan, M. T. H., Khan, S. B. and Ather, A. (2006) Tyrosinase inhibitory cycloartane type triterpenoids from the methanol extract of the whole plant of *Amberboa ramosa* Jafri and their structure-activity relationship. *Bioorg. Med. Chem.* **14**, 938-943.
- Zhang, H. J., Tan, G. T., Hoang, V. D., Hung, N. V., Cung, N. M., Soejarto, D. D., Pezzuto, J. M. and Fong, H. H. S. (2003) Natural anti-HIV agents. Part IV. Anti-HIV constituents from *Vatica cinerea*. *J. Nat. Prod.* **66**, 263-268.
- Simin, K., Franz, J. V. and Augest, W. F. (2007) Phytochemical investigation of *Perovskia abrotanoides*. *Planta Med.* **73**, 77-83.
- Madureira, A. M., Spengler, G., Molnar, A., Varga, A., Molnar, J. A., Pedro, M. F. and Maria-Jose, U. (2004) Effect of cycloartanes on reversal of multidrug resistance and apoptosis induction on mouse lymphoma cells. *Anticancer Res.* **24**, 859-864.
- Pathak, A. K., Bhutani, M., Nair, A. S., Ahm, K. S., Chakraborty, A., Kadara, H., Guha, S., Sethi, G. and Aggarwal, B. B. (2007) Ursolic acid inhibits STAT3 activation pathway leading to suppression of proliferation and chemosensitization of human multiple myeloma cells. *Molecular Cancer Res.* **5**, 943-955.
- Gao, X., Deeb, D., Jiang, H., Liu, Y., Dulchavsky, S. A. and Gautam, S. C. (2007) Synthetic triterpenoids inhibit growth and induce apoptosis in human glioblastoma and neuroblastoma cells through inhibition of prosurvival Akt, NF-κB and Notch1 signaling. *J. Neuro Onc.* **84**, 147-157.
- Chinou, I., Liolios, C., Moreau, D. and Roussakis, C. (2007) Cytotoxic activity of *origanum dictamnus*. *Fitoterapia* **78**, 342-344.
- Tatsuzaki, J., Taniguchi, M., Bastow, K. F., Nakagawa, G. K., Morris-Natschke, S. L., Itokawa, H., Baba, K. and Lee, K. H. (2007) Anti-tumor agents 255: Novel glycyrrhetic acid-dehydrozingerone conjugates as cytotoxic agents. *Bioorganic Med. Chem.* **15**, 6193-6199.
- Achiwa, Y., Hasegawa, K. and Udagawa, Y. (2007) Regulation of the phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt and the mitogen-activated protein kinase pathways by ursolic acid in human endometrial cancer cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **71**, 31-37.
- Horiuchi, K., Shiota, S., Hatano, T., Yoshida, T., Kuroda, T. and Tsuchiya, T. (2007) Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biol. Pharm. Bull.* **30**, 1147-1149.
- Yin, M. C. and Chan, K. C. (2007) Nonenzymatic antioxidative and antiglycative effects of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 7177-7181.
- Rosa, C. S., Gimenez, M. D. G., Rodriguez, M. T. S. and Puerta, V. R. (2007) Antihistaminic and antieicosanoid effects of oleanolic and ursolic acid fraction from *Helichrysum picardii*. *Pharmazie* **62**, 459-462.