

Isolation and Identification of Triterpenoids from the Mulberry (*Morus alba*) Root Bark

Jae-Woo Jung · Ji-Hae Park · Ye-Jin Jung · Chang-Ho Lee · Daeseok Han · Nam-In Baek*

상백피(*Morus alba* root bark)로부터 triterpenoid의 분리 및 동정

정재우 · 박지혜 · 정예진 · 이창호 · 한대석 · 백남인*

Received: 3 March 2014 / Accepted: 8 May 2014 / Published Online: 31 December 2014
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2014

Abstract The mulberry (*Morus alba* L.) root barks were extracted with 80% aqueous methanol at room temperature. The concentrated extract was partitioned as ethyl acetate (EtOAc), *n*-BuOH, and H₂O fractions. From the EtOAc fraction, five triterpenoids were isolated through the repeated silica gel and octadecyl SiO₂ column chromatographies. According to the results of physico-chemical and spectroscopic data including nuclear magnetic resonance, mass spectrometry, and infrared, the chemical structures of the triterpenoids were respectively determined as α -amyrin (1), α -acetyl amyirin (2), lupeol (3), betulinic acid (4), and glutinol (5). Compounds 1, 3, and 5 were isolated for the first time from the mulberry root bark.

Keywords *Morus alba* L. · mulberry root bark · nuclear magnetic resonance · triterpenoid

서론

상백피(mulberry root bark)는 뽕나무과(Moraceae)의 뽕나무속 식물의 뿌리 껍질로, 예로부터 해열, 항알러지, 혈압강하, 소염, 이뇨, 진해, 진통 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 1999). 동의보감에는 폐기의 숨이 찬 천만[喘滿, 숨이 차서 가슴이 몹시 헐떡거리는 증세]과 수기부종[水氣浮腫]을 다스리고 폐의 수기를 없애주며, 수도[水道]를 이롭게 하며, 해수와 침에 섞여 나오는 피를 다스린다고 알려져 있다. 지금까지 상백피로부터 분리 보고된 성분으로는 isoprenylated-flavonoid 화합물인 sanggenol A, sanggenon N, sanggenol P (Geng 등, 2010)와 diels-alder 축합 화합물인 kuwanol A와 mulberrofuran G (Hano 등, 1988)가 있으며, triterpenoid 화합물인 ursolic acid (Geng 등, 2010)와 benzofuran 화합물인 moracin O와 moracin M (Lee 등, 2012)등이 있다. 상백피의 추출물 및 분리된 화합물에 대하여 미백효과 및 항산화작용(Jee, 2009; Zheng 등, 2012), 항염증효과(Yang 등, 2011), 간보호 효과(Kim 등, 1999), 항암효과(Park 등, 1996), 혈당강하 효과(Zhang 등, 2009)등 다양한 생리활성이 있는 것으로 밝혀지고 있다.

이에 본 연구에서는 상백피로부터 지속적으로 이차대사산물을 분리하고 각 물질에 대한 성분분석과 여러가지 생리활성에 관련한 연구를 진행하여 상백피를 기능성 화장품 및 의약품 소재로서의 활용 방안을 모색하고자 실험을 수행하였다. 상백피를 methanol (MeOH)로 추출하고 용매 분획 한 후 얻어진 ethyl acetate (EtOAc) 분획에 대하여 여러 가지 resin을 사용한 column chromatography를 반복 실시하여 5종의 triterpenoid 화합물을 분리 하였고, nuclear magnetic resonance (NMR), infrared (IR), mass spectrometry (MS) 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여 화학 구조를 동정하였다. 분리한 5종의 화합물 중 α -amyrin (1), lupeol (3) 그리고 glutinol (5)은 상백피로부터는 이번 실험에서 처음 분리 되었다.

J.-W. Jung · J.-H. Park · Y.-J. Jung · N.-I. Baek
Graduate School of Biotechnology & Department of Oriental Medicinal Materials and Processing, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Republic of Korea

C.-H. Lee · D. Han
Division of Metabolism and Functionality Research, Korea Food Research Institute, Sungnam 463-746, Republic of Korea

*Corresponding author (N.-I. Baek: nibaek@khu.ac.kr)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용한 뽕나무(*Morus alba* L.) 뿌리껍질은 강원도 홍천군에서 재배한 것으로 한국식품연구원에서 제공받아 사용하였다. 표본시료(KHU-NPCL-201204)는 경희대학교 천연물화학실에 보관되어 있다.

시약 및 기기. Column chromatography (c.c.)용 silica gel (SiO₂)은 Kiesel gel 60 (Merck, Germany), 그리고 octadecyl SiO₂ (ODS) gel은 LiChroprep RP-18 (Merck)을 사용하였다. Thin layer chromatography (TLC)는 Kieselgel 60 F₂₅₄와 RP-18 F_{254S} (Merck)를 사용하였고, 실험에 이용한 모든 시약은 특급시약을 사용하였다. NMR spectrum은 Varian Inova AS 400 (Varian, USA)으로 측정하였고, IR spectrum은 Perkin model 599B (Waltham, USA)로 측정하였다. Electronic ionization (EI) MS spectrum은 JEOL JMS 505-WA (JEOL, Japan)로 측정하였다. UV lamp는 Spectroline ENF-240 C/F (Spectronics Corporation, USA)을 사용하였고, 용점은 Fisher-Johns 용점 측정기(Fisher Scientific, USA)를 사용하여 측정하였고, 미보정하였다.

추출 및 분획. 건조 및 분쇄된 뽕나무 뿌리껍질 10 kg을 80% MeOH 수용액(68 L×3)으로 실온에서 24시간 3회 추출한 후 여과지로 여과하였다. 얻어진 추출물을 감압 농축하여 MeOH 추출물(1.7 kg)을 얻었다. MeOH 추출물은 H₂O (2 L)와 EtOAc (2 L×2)로 분배 추출하였고, 다시 H₂O 층을 *n*-butyl alcohol (*n*-BuOH, 1.8 L×3)로 분배 추출하였다. 각 층을 감압농축하여 EtOAc 분획(MRE, 580 g), *n*-BuOH 분획(MRB, 114 g) 및 H₂O 분획(MRH, 1006 g)을 얻었다.

EtOAc 분획으로부터 triterpenoid의 분리. EtOAc 분획(122 g)으로부터 SiO₂ c.c. (φ 12.5×17 cm, *n*-hexane-EtOAc=4:1→2:1→1:1→chloroform (CHCl₃)-MeOH=10:1, 각 27 L)를 실시하여 41개의 분획물(MRE-1-MRE-41)을 얻었다. 그 중에서 MRE-3 (2.15 g, elution volume/total volume (Ve/Vt)=0.021–0.032)을 SiO₂ c.c. (φ 7.5×12 cm, *n*-hexane-EtOAc=9:1, 7.5 L)로 17개의 분획(MRE-3-1-MRE-3-17)으로 나누었다, 그 중 MRE-3-2 (603 mg, Ve/Vt=0.077–0.119)에 대하여 ODS c.c. (φ 4.5×7 cm, acetone-H₂O=8:1, 1.4 L)를 실시하여 12개의 분획(MRE-3-2-1-MRE-3-2-12)으로 나누었다. 다시 MRE-3-2-9 (290 mg, Ve/Vt=0.345–0.672)에 대하여 ODS c.c. (φ 2.5×5 cm, acetone-H₂O=8:1, 320 mL)를 실시하여 10개의 분획(MRE-3-2-9-1-MRE-3-2-9-10)으로 나누었고, 그 중 화합물 2 (MRE-3-2-9-6, 24 mg, Ve/Vt=0.478–0.578, TLC (ODS F_{254S}) R_f 0.50, acetone-H₂O=26:1)를 분리하였다. MRE-3-11 (143 mg, Ve/Vt=0.451–0.518)에 대하여 ODS c.c. (φ 3×11 cm, acetone-H₂O=4:1, 560 mL–14:1, 1.5 L)를 실시하여 9개의 분획(MRE-3-11-1-MRE-3-11-9)으로 나누었고, 그 중 MRE-3-11-4 (34 mg, Ve/Vt=0.306–0.420)에 대하여 ODS c.c. (φ 2.5×4 cm, acetone-H₂O=5:1, 300 mL)를 실시하여 8개의 분획(MRE-3-11-4-1-MRE-3-11-4-8)으로 나누었으며, 화합물 5 (MRE-3-11-4-5, 7.5 mg, Ve/Vt=0.668–0.818, TLC (ODS F_{254S}) R_f 0.50, acetone-H₂O=18:1)를 분리하였다. MRE-3-14 (134 mg, Ve/Vt=0.692–0.838)에 대하여 SiO₂ c.c. (φ 3.5×12 cm, *n*-hexane-EtOAc=14:1, 1.6 L)를 실시하여 7개의 분획(MRE-3-14-1-MRE-3-14-7)으로 나누었으며, 그 중 MRE-3-14-4 (73 mg, Ve/Vt=0.461–0.685)에 대하여 ODS c.c. (φ 2.5×4 cm, acetone-H₂O=4:1, 900 mL)를 실

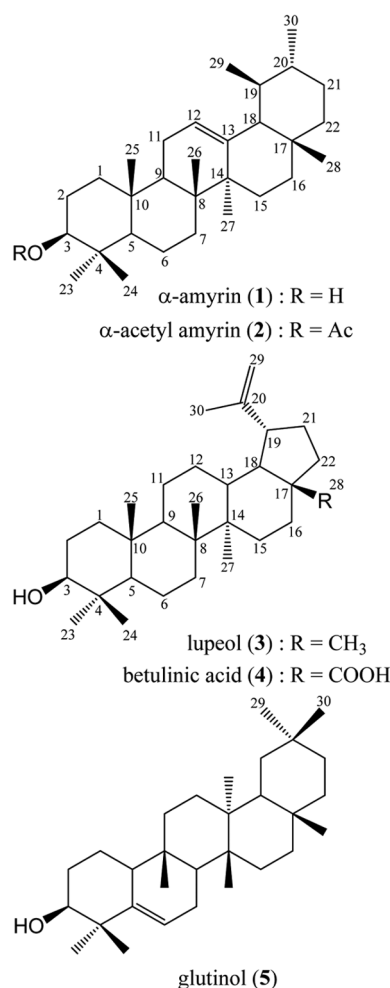


Fig. 1 Chemical structures of triterpenoids from the mulberry (*Morus alba*) root bark.

시하여 8개의 분획(MRE-3-11-4-1-MRE-3-11-4-8)으로 나누었으며 화합물 3 (MRE-3-14-4-5, 9 mg, Ve/Vt=0.486–0.611, TLC (ODS F_{254S}) R_f 0.50, acetone-H₂O=28:1)과 화합물 1 (MRE-3-14-4-8, 24 mg, Ve/Vt=0.777–0.941, TLC (ODS F_{254S}) R_f 0.50, acetone-H₂O=30:1)을 분리하였다. 또한, MRE-14 (8.16 g, Ve/Vt=0.117–0.205)에 대하여 ODS c.c. (φ 5.5×10 cm, MeOH-H₂O=3:1, 13 L)를 실시하여 18개의 분획(MRE-14-1-MRE-14-18)으로 나누었고, 그 중 화합물 4 (MRE-14-14, 230 mg, Ve/Vt=0.791–0.815, TLC (ODS F_{254S}) R_f 0.56, MeOH-H₂O=14:1)를 분리하였다.

화합물 1 (α-amyrin): colorless needles (in CHCl₃); m.p. 182–184; [α]_D²⁵+45.2° (c=0.27, CHCl₃); EI/MS *m/z* 426 [M]⁺; IR (KBr, ν) 3450, 1661 cm⁻¹; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ_H) 5.11 (1H, t-like, *J*=3.6 Hz, H-12), 3.20 (1H, dd, *J*=10.4, 5.2 Hz, H-3), 1.05 (3H, s, H-27), 0.99 (3H, s, H-26), 0.97 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, s, H-25), 0.89 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-30), 0.77 (3H, s, H-28), 0.76 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-29), 0.75 (3H, s, H-24); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, δ_C); Table 1.

화합물 **2** (α -acetyl amyirin): colorless amorphous powder (in CHCl_3); m.p. 219–222; $[\alpha]_D^{25}+55.9^\circ$ ($c=0.20$, CHCl_3); EI/MS m/z 468 $[\text{M}]^+$; IR (KBr, ν) 3423, 1735, 1245 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ spectrum (400 MHz, CDCl_3 , δ_{H}) 5.10 (1H, t-like, $J=3.6$ Hz, H-12) 4.48 (1H, dd, $J=10.4$, 5.4 Hz, H-3), 2.02 (3H, s, OAc), 1.04 (3H, s, H-27), 0.99 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-25), 0.89 (3H, d, $J=5.6$ Hz, H-30), 0.85 (3H, s, H-23), 0.84 (3H, s, H-24), 0.78 (3H, s, H-28), 0.76 (3H, d, $J=5.6$, H-29); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ_{C}); Table 1.

화합물 **3** (lupeol): white powder (in CHCl_3); m.p. 210; $[\alpha]_D^{25}+19.1^\circ$ ($c=0.29$, CHCl_3); EI/MS m/z 426 $[\text{M}]^+$; IR (KBr, ν) 3510, 1680 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ_{H}) 4.66 (1H, br.s, H-29a), 4.55 (1H, br.s, H-29b), 3.16 (1H, dd, $J=11.2$, 4.8 Hz, H-3), 2.35 (1H, ddd, $J=16.8$, 11.2, 6.0 Hz, H-19), 1.66 (3H, s, H-30), 1.01 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-23), 0.92 (3H, s, H-27), 0.81 (3H, s, H-25), 0.77 (3H, s, H-28), 0.74 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,

CDCl_3 , δ_{C}); Table 1.

화합물 **4** (betulinic acid): white powder (in pyridine- d_5); m.p. 282; $[\alpha]_D^{25}+20.7^\circ$ ($c=0.30$, CHCl_3); EI/MS m/z 456 $[\text{M}]^+$; IR (KBr, ν) 3413, 1725, 1653 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 4.94 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-29a), 4.77 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-29b), 3.45 (1H, t-like, $J=8.0$ Hz, H-3), 1.80 (3H, s, H-30), 1.22 (3H, s, H-23), 1.08 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, s, H-27), 1.00 (3H, s, H-24), 0.84 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C}); Table 1.

화합물 **5** (glutinol): colorless needles (in CHCl_3); m.p. 268; $[\alpha]_D^{25}+38.2^\circ$ ($c=0.33$, CHCl_3); EI/MS m/z 426 $[\text{M}]^+$; IR (KBr, ν) 3436, 1622 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ_{H}) 5.61 (1H, br.d, $J=6.0$ Hz, H-6), 3.44 (1H, t-like, $J=3.2$ Hz, H-3), 1.14 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, s, H-24), 1.07 (3H, s, H-27), 1.02 (3H, s, H-23), 0.98 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-29), 0.83 (3H, s, H-25); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , δ_{C}); Table 1.

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ data (100 MHz) of compounds **1-5** from the mulberry (*Morus alba*) root bark

No. of Carbon	Compound 1	Compound 2	Compound 3	Compound 4	Compound 5
1	38.78	38.5	38.1	39.3	18.2
2	27.26	23.6	25.1	28.3	27.8
3	79.04	80.9	79.0	78.1	76.3
4	38.76	37.7	38.7	39.4	40.8
5	55.18	55.2	55.3	55.9	141.6
6	18.35	18.2	18.3	30.3	122.1
7	32.93	32.9	34.3	18.8	23.6
8	40.01	40.0	40.8	34.8	47.4
9	47.71	47.6	50.4	41.1	34.8
10	36.89	36.8	37.2	51.0	49.7
11	23.36	23.4	20.9	37.6	34.6
12	124.42	124.3	27.4	21.2	30.3
13	139.58	139.6	38.9	26.1	37.8
14	42.07	42.1	42.8	38.6	39.3
15	26.61	28.1	27.4	42.8	32.1
16	28.10	26.6	35.6	32.9	36.0
17	33.75	33.7	43.0	56.6	30.1
18	59.06	59.0	48.3	48.1	43.1
19	39.66	39.6	48.0	49.8	35.1
20	39.60	39.6	151.0	151.3	28.2
21	31.25	31.2	29.7	31.2	33.1
22	41.52	41.5	40.0	37.5	38.9
23	28.12	28.1	28.0	28.8	28.9
24	15.62	16.7	15.4	16.4	25.4
25	15.67	15.7	16.1	16.3	16.2
26	16.86	16.9	16.0	16.3	19.6
27	23.27	23.2	14.5	14.9	18.4
28	28.74	28.7	18.0	178.8	32.0
29	17.46	17.5	109.3	109.9	34.5
30	21.39	21.4	19.5	19.5	32.4
acetyl		171.0			
acetyl		21.3			

$^{13}\text{C-NMR}$ measured in CDCl_3 (**1-3** and **5**) and pyridine- d_5 (**4**), respectively.

결과 및 고찰

상백피를 80% MeOH로 추출하여 얻어진 추출물에 대하여 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH 및 H₂O로 순차 분획하고, 각 분획을 감압 농축하여 3개의 분획을 얻었다. EtOAc 분획으로부터 SiO₂과 ODS c.c.를 반복 실시하여, 5종의 triterpenoid 화합물을 분리하였다.

화합물 **1** (colorless needles)는 EI/MS에서 m/z 426 [M]⁺의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 426으로 결정하였다. IR 스펙트럼으로부터 수산기(3450 cm⁻¹)와 이중결합(1661 cm⁻¹)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum에서 olefin methine proton signal (δ_H 5.11, 1H, t-like, $J=3.6$ Hz, H-12)과 oxygenated methine proton signal (δ_H 3.20, 1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-3)이 각각 1개씩 관측되었다. 고자장영역에서 6개의 singlet methyl proton signal (δ_H 1.05, H-27; 0.99, H-26; 0.97, H-23; 0.93, H-25; 0.77, H-28; 0.75, H-24)이 관측되었고, 2개의 doublet methyl proton signal (δ_H 0.89, $J=6.4$ Hz, H-30; 0.76, $J=6.4$ Hz, H-29)이 관측되었다. 또한 δ_H 1.91–0.72에서 methine과 methylene proton signal이 다수 관측되었다. 이를 종합하여 이중결합 1개를 가진 ursane 골격의 triterpenoid로 예측하였다. ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum에서 30개의 탄소가 관측되어 triterpenoid 골격의 화합물로 확인되었다. 저자장 영역에서는 olefin quaternary carbon signal (δ_C 139.58, C-13)과 olefin methine carbon signal (δ_C 124.42, C-12)이 각각 한 개씩 관측되었으며, 수산기 영역에서도 한 개의 oxygenated methine carbon signal (δ_C 79.04, C-3)이 관측되었다. 또한 고자장 영역에서 quaternary carbon signal (δ_C 42.07, C-14; 40.01, C-8; 38.76, C-4; 36.89, C-10; 33.75, C-17)과 methine carbon signal (δ_C 59.06, C-18; 55.18, C-5; 47.71, C-9; 39.66, C-19; 39.60, C-20)이 각각 5개씩 관측되었고, 이 밖에도, 10개의 methylene carbon signal (δ_C 41.52, C-22; 38.78, C-1; 32.93, C-7; 31.25, C-21; 28.10, C-16; 27.26, C-2; 26.61, C-15; 23.36, C-11; 18.35, C-6; 17.46, C-29)과 8개의 methyl carbon signal (δ_C 28.74, C-28; 28.12, C-23; 23.27, C-27; 21.39, C-30; 17.46, C-29; 16.86, C-26; 15.67, C-25; 15.62, C-24)이 관측되었다. 이를 종합하여 문헌과 비교한 결과, 화합물 **1**은 a-amyrin으로 동정하였다(Masayo 등, 2000; Furukawa 등, 2002).

화합물 **2** (colorless needles)는 EI/MS에서 m/z 468 [M]⁺의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 468으로 결정하였고, 이는 화합물 **1**보다 m/z 42가 큰 값으로, 화합물 **1**에 acetyl기가 결합된 구조임을 예상하였다. IR 스펙트럼으로부터 수산기 (3423 cm⁻¹), acetyl기의 carbonyl (1735 cm⁻¹) 그리고 이중결합 (1645 cm⁻¹)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. NMR에서도 이 화합물 **1**과 비교하여 acetyl기 유래의 signal (δ_H 2.02, 3H, s, acetyl-methyl; δ_C 171.0, 21.3, acetyl)이 추가로 관측되었고, acetyl기가 결합된 수산기가 위치한 H-3이 “3.2 ppm”에서 “4.48 ppm”으로 저자장 shift되어 관측되었다. 이는 carbonyl group에 의한 전자의 벗겨짐 현상에 의한 것으로 본래 수산기에 추가 관측된 acetyl group이 결합하여, H-3이 저자장에서 나타난 것임을 알 수 있었다. 따라서, 이 화합물을 α -amyrin의 3번 위치에 acetyl기가 결합한 a-acetyl amyrin으로 구조동정하였고, 문헌(Rehana 등, 2004)과 비교하여 확인하였다.

화합물 **3** (white powder)는 EI/MS에서 m/z 426 [M]⁺의 분

자이온 peak가 관측되어 분자량을 426으로 결정하였다. IR 스펙트럼으로부터 수산기(3510 cm⁻¹)와 이중결합(1680 cm⁻¹)의 작용기를 갖는 것으로 확인하였다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum의 저자장 영역에서 geminal coupling을 보이는 2개의 olefin proton signal (δ_H 4.66, 1H, br.s, H-29a; 4.55, 1H, br.s, H-29b)이 관측되어 exomethylene signal임을 예상하였다. 또한 수산기 영역에서는 한 개의 oxygenated methine proton signal (δ_H 3.16, 1H, dd, $J=11.2, 4.8$ Hz, H-3)이 관측되었다. 이 밖에도, 고자장 영역에서는 7개의 singlet methyl proton signal (δ_H 1.66, H-30; 1.01, H-26; 0.95, H-23; 0.92, H-27; 0.81, H-25; 0.77, H-28; 0.74, H-24)이 관측되었다. 또한 δ_H 2.35–0.69에서 methine, methylene proton signal이 다수 관측되었다. 이를 종합하여 lupane 골격의 triterpenoid로 예측하였다. ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum에서 30개의 탄소가 관측되어 triterpenoid 골격의 화합물로 확인되었다. Olefin quaternary carbon signal (δ_C 150.98, C-20), exomethylene carbon signal (δ_C 109.31, C-29), 그리고 oxygenated methine carbon signal (δ_C 79.01, C-3)이 각각 한 개씩 관측되었다. 또한, quaternary carbon signal (δ_C 43.00, C-17; 42.83, C-14; 40.84, C-8; 38.71, C-4; 37.17, C-10)과 methine carbon signal (δ_C 55.30, C-5; 50.44, C-9; 48.31, C-18; 47.98, C-19; 38.86, C-13)은 5개씩 관측되었으며, 10개의 methylene carbon signal (δ_C 40.00, C-22; 38.05, C-1; 35.58, C-16; 34.28, C-7; 29.70, C-21; 27.45, C-15; 27.41, C-12; 25.15, C-2; 20.93, C-11; 18.31, C-6)과 7개의 methyl carbon signal (δ_C 27.98, C-23; 19.50, C-30; 18.00, C-28; 16.11, C-25; 15.97, C-26; 15.36, C-24; 14.54, C-27)이 관측되었다. 이를 종합하여 문헌과 비교한 결과, 화합물 **3**은 lupeol로 동정하였다(Baek 등, 2010).

화합물 **4** (white powder)는 EI/MS에서 m/z 456 [M]⁺의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 456으로 결정하였고, 이는 화합물 **3**보다 m/z 30이 큰 구조임을 알 수 있었다. IR 스펙트럼으로부터 수산기 (3413 cm⁻¹), carboxyl기 (1725 cm⁻¹) 그리고 이중결합 (1653 cm⁻¹)의 작용기를 갖는 것으로 확인되어 화합물 **3**과 비교하여, carbonyl기가 존재함을 알 수 있었다. NMR data에서도 화합물 **3**과 매우 유사하며, 단지 한 개의 methyl기가 산화되어 6개만이 관측된 점과, ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅) spectrum에서 carboxyl carbon signal (δ_C 178.84 C-28)이 관측된 점이 달랐다. 따라서, 이 화합물을 lupeol의 C-28번 methyl기가 산화되어 carboxyl기로 치환된 betulinic acid로 구조동정하였고, 문헌(Baek 등, 2010)과 비교하여 확인하였다.

화합물 **5** (colorless needles)는 EI/MS에서 m/z 426 [M]⁺의 분자이온 peak가 관측되어 분자량을 426으로 결정하였다. IR 스펙트럼으로부터 수산기(3436 cm⁻¹)와 이중결합(1622 cm⁻¹)의 작용기를 갖는 것으로 확인되었다. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) spectrum에서 olefin methine proton signal (δ_H 5.61, 1H, d, $J=6.0$ Hz, H-6)과 oxygenated methine proton signal (δ_H 3.44, 1H, t-like, $J=3.2$ Hz, H-3)이 각각 1개씩 관측되었다. 고자장영역에서는 8개의 singlet methyl proton signal (δ_H 1.14, H-28; 1.12, H-24; 1.07, H-27; 1.02, H-23; 0.98, H-26; 0.96, H-30; 0.93, H-29; 0.83, H-25)이 관측되었다. 또한 δ_H 2.01–0.92에서 methine과 methylene proton signal이 다수 관측되었다. 이를 종합하여 화합물 **5**는 oleanane 골격의 triterpenoid로 예측하였다. ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum에서 30개의 탄소가 관측되어 triterpenoid 골격의 화합물로 확인되었다. 저자장

영역에서 olefin quaternary carbon signal (δ_C 141.60, C-5)과 olefin methine carbon signal (δ_C 122.06, C-6)과 수산기영역에서는 oxygenated methine carbon signal (δ_C 76.34, C-3)이 각각 1개씩 관측되었다. 고자장영역에서는 6개의 quaternary carbon signal (δ_C 40.81, C-4; 39.29, C-14; 37.83, C-13; 34.83, C-9; 30.08, C-17; 28.24, C-20), 3개의 methine carbon signal (δ_C 49.68, C-10; 47.42, C-8; 43.05, C-18), 10개의 methylene carbon signal (δ_C 38.95, C-22; 36.01, C-16; 35.06, C-19; 34.60, C-11; 33.10, C-21; 32.07, C-15; 30.34, C-12; 27.80, C-2; 23.63, C-7; 18.20, C-1), 그리고 8개의 methyl carbon signal (δ_C 34.51, C-29; 32.38, C-30; 32.02, C-28; 28.93, C-23; 25.43, C-24; 19.60, C-26; 18.41, C-27; 16.19, C-25)이 관측되었다. 이를 종합하여 문헌과 비교한 결과, 화합물 5는 glutinol로 구조 동정하였다(Mahato 등, 1981).

α -Acetyl amyirin (2) 및 betulinic acid (4)는 이전에 상백피로부터 분리 보고된 바 있으나(Du 등, 2003; Singab 등, 2005), α -amyirin (1), lupeol (3) 그리고 glutinol (5)은 상백피에서는 이번에 처음으로 분리, 동정하였다. α -Amyirin은 암세포주에 대한 세포독성(Khiev 등, 2009)이 보고되었고, lupeol은 암세포주에 대한 세포독성(Khiev 등, 2009)과 콜레스테롤 흡수 억제 활성(Baek 등, 2010)이 보고되었으며, glutinol은 암세포주에 대한 세포독성(Jang 등, 2005)과 항염증 활성(Lin 등, 2013)이 보고 되어있다.

초 록

뽕나무(*Morus alba* L.) 뿌리껍질을 실온에서 80% MeOH 수용액으로 추출하고 이 추출물을 EtOAc 분획, *n*-BuOH 분획, H₂O 분획으로 나누었다. EtOAc 분획에 대하여 silica gel과 ODS column chromatography를 반복 실시하여 5종의 triterpenoid를 분리, 정제하였다. NMR, IR, 및 EI/MS 등을 해석하여, α -amyirin (1), α -acetyl amyirin (2), lupeol (3), betulinic acid (4) 그리고 glutinol (5)로 구조동정 하였다. 화합물 중 α -amyirin (1), lupeol (3) 그리고 glutinol (5)은 상백피로부터는 이번 실험에서 처음으로 분리되었다.

Keywords 상백피 · 뽕나무 · nuclear magnetic resonance · triterpenoid

감사의 글 본 연구는 한국식품연구원의 항스트레스 추출물(상백피)의 분리, 정제 및 활성물질 표준화(20140398U0054101S000100)에서 지원한 연구비로 수행 되었음.

References

- Baek MY, Cho JG, Lee DY, Ahn EM, Jeong TS, and Baek NI (2010) Isolation of triterpenoids from the stem bark of *Albizia julibrissin* and their inhibition activity on ACAT-1 and ACAT-2. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **53**, 310–5.
- Du J, He ZD, Jiang RW, Ye WC, Xu HX, and But PPH (2003) Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry* **62**, 1235–8.
- Furukawa S, Takagi N, Ikeda T, Ono M, Nafady A, Nohara T et al. (2002) Two novel long-chain alkanolic acid esters of lupeol from alecrim-propolis. *Chem Pharm Bull* **50**, 439–40.
- Geng CA, Yao SY, Xue DQ, Zuo AX, Zhang XM, Jiang ZY et al. (2010) New isoprenylated flavonoid from *Morus alba*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* **35**, 1560–5.
- Hano Y, Suzuki S, Kohno H, and Nomura T (1988) Absolute configuration of natural diels-alder type adducts from the *Morus* root bark. *Heterocycles* **27**, 2315–25.
- Jang GU, Choi SU, and Lee KR (2005) Cytotoxic constituents of *Rhododendron brachycarpum*. *Yakhak Hoeji* **49**, 244–8.
- Jee SO (2009) Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba* L.) root bark extracts. *Korean J Plant Res* **22**, 145–51.
- Khiev P, Cai XF, Chin YW, Ahn KS, Lee HK, and Oh SR (2009) Cytotoxic terpenoids from the methanolic extract of *Bridelia cambodiana*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **52**, 626–31.
- Kim SY, Lee HS, Ryu KS, Lee EJ, and Kim YC (1999) Protective effects of extracts of Mori cortex radicis on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Yakhak Hoeji* **43**, 391–6.
- Lee HJ, Lyu DH, Nam KW, Hong SS, Kim KO, Kim KH et al. (2012) Protection of prenylated flavonoids from Mori cortex radicis (Moraceae) against nitric oxide-induced cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Arch Pharm Res* **35**, 163–70.
- Lin CH, Chang HS, Liao HR, Chen IS, and Tsai IL (2013) Triterpenoids from the roots of *Rhaphiolepis indica* var. *tashiroi* and their anti-inflammatory activity. *Int J Mol Sci* **14**, 8890–8.
- Mahato S, Das M, and Sahu N (1981) Triterpenoids of *Scoparia dulcis*. *Phytochemistry* **20**, 171–3.
- Masayo M, Masaaki S, Tetsuo K, Kazuo M, and Yutaka E (2000) Molecular cloning and functional expression of triterpene synthases from pea (*Pisum sativum*). *Eur J Biochem* **267**, 3453–60.
- Park SW and Kim SH (1996) Cell growth inhibition of Mori cortex on HTB 176 lymphoblastoma. *J Basic Sci* **9**, 105–15.
- Rehana A, Fahima R, Sarwat M, and Nasir A (2004) Constituents of *Prunus armeniaca*. *Pak J Sci Ind Res* **47**, 142–5.
- Singab A, Ei-Beshbishy H, Yonekawa M, Nomura T, and Fukai T (2005) Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: Effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* **100**, 333–8.
- Yang ZG, Matsuzaki K, Takamatsu S, and Kitanaka S (2011) Inhibitory effects of constituents from *Morus alba* var. *multicaulis* on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW264.7 cells. *Molecules* **16**, 6010–22.
- Zhang M, Chen M, Zhang HQ, Sun S, Xia B, and Wu FH (2009) *In vivo* hypoglycemic effects of phenolics from the root bark of *Morus alba*. *Fitoterapia* **80**, 475–7.
- Zheng ZP, Tan HY, and Wang MF (2012) Tyrosinase inhibition constituents from the roots of *Morus australis*. *Fitoterapia* **83**, 1008–13.