

Dammarane系 Triterpenoid의 質量分光分析

韓 秉 勳 · 金 濟 勳 · 池 亨 浚

서울대학교 生藥研究所

Mass Spectrometry of Dammarane Triterpenoids

Byung Hoon HAN, Jae Hoon KIM and Hyung Joon CHI

Natural Products Research Institute, Seoul National University

Mass spectra of the dammarane triterpenes having open side chain and C₂₀-C₂₅-epoxy side chain were measured. Principal fragment ions were assigned and plausible mechanisms for the formation of the fragment ions were proposed. In general, the triterpenoids of C₂₀-C₂₅-epoxy side chain produce h₁-species fragment ions by the deletion of side chain at C₂₀-C₂₂ bond and open side chain triterpenoids produce h₂ species fragmentations whose mass numbers are higher by two mass unit than those of h₁ species. The mass number of h species fragment ions will serve as the diagnostic tool for the elucidation of side chain structure of tetracyclic triterpenoids.

서 론

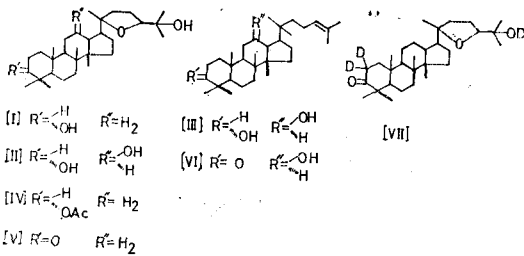
Pentacyclic triterpenoids의 mass fragmentation에 대해서는 Djerassi¹⁻²⁾ 등에 의한 廣範圍한 연구가 있고, 또 terpenoid의 mass全般에 걸친 review³⁾도 나와 있으나 tetracyclic triterpenoids

의 mass fragmentation의 例는 그다지 많지 못하다. 特히 tetracyclic triterpenoid에 對해서는 그 fragment ion단을 解析함으로써 그 化學構造의 全貌를 推定하기에는 構造特異性이 있는 fragment ion에 對한 情報가 現在로서는 너무 狹약하다. 著者は 자작나무(*Betula latifolia* KOMAROV, Betulaceae)에서 dammarane系에 속하는 tetra-

Table I. Structure Specific Fragment Ions of Dammarane Triterpenoids.

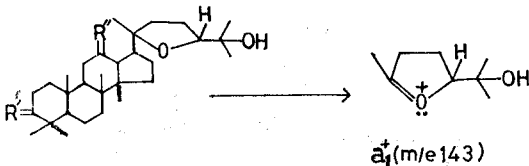
Compounds	Fragment ions (m/e): abundance %					
	M ⁺	a ⁺	d ⁺	e ⁺	f ⁺	h ⁺
[I]	460:0.1	143:100		189:23 207:18	203:10 221:2.5	341:2
[II]	476:<0.1	143:100		189:53 207:81	203:15 221:5	339:11.5
[III]	460:<0.1		135:100	189:100 207:100	203:100 221:41	341:100
[IV]	502:<0.1	143:100		189:100 249:17	203:90 263:2	341:14 401:2
[V]	458:<0.1	143:100		205:100	219:2.8	357:13
[VI]	458:<0.1		135:100	205:100	219:40	357:100
[VII]	461:<0.1	144:100		207:16	221:3	359:1

cyclic triterpenoids [I], [II], [III]을 分離하여⁴⁾ 그 化學構造를 밝혀 報告한 바 있다(Fig.1). 本報에서는 그 化學構造가 定해진 [I], [II], [III]과 그 數種 유도체 [IV], [V], [VI], [VII]을 사용하여 그 mass spectra를 比較 解析함으로써 Table I에 表示된 바와 같은 fragment ion들을 확인하였으며 이들 fragment ion의 大部分은 tetracyclic triterpenoid의 構造를 推定하는데 있어서 診斷의 道具로 活用할만한 充分한 價値가 認定되었고 이들 fragment ion들에 依하여 triterpenoid의 構造를 推定하는 論理에 있어서 數種 新知見이 얻어진 바 있음으로 報告코자 한다.



側鎖의 構造 [I], [II]와 그 유도체 [IV],

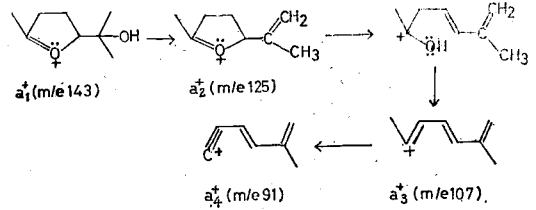
[V]는 a_1^+ m/e 143이 base peak로 나타났다.



a_1^+ 의 起源은 p+1(8.9%)peak와 또 이보다 低 質量部分에 나타난 a_2^+ m/e 125(12%), a_3^+ m/e 107(6.5%), a_4^+ m/e 91(2%)의 出現에 依하여 a_1^+ 는 $C_8H_{15}O_2^+$ 임을 알 수 있다. a_2^+ , a_3^+ , a_4^+ 가 a_1^+ 에서 由來되었음은 각각 그 metastable ion (m/e 109.2, 91.5, 77.4)들이 뒷받침하고 있다. 따라서, [I]에 있는 3個 酸素原子中 2個의 酸素는 a_1^+ ion中에 含有되어 있으면서도 [I]의 各種 유도체 [IV], [V]에서도 a_1^+ ion이 變化되지 않고 出現하고 있음은 a_1^+ ion中에 acetylation 또는 酸化 받을 수 있는 水酸基가 없음을 뜻한다. a_1^+ ($C_8H_{15}O_2^+$)의 不飽和度는 1이고 [I]에 不飽和 結合이 없다는 事實을 綜合하면 a_1^+ 에는 1個

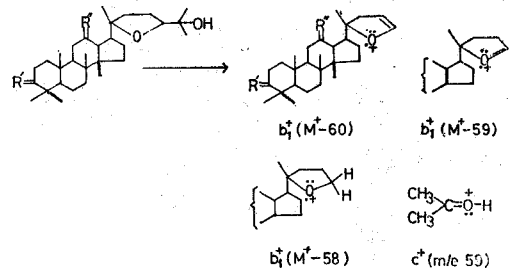
의 cyclic ether 結合과 1個의 三級水酸基가 있음을 뜻한다.

分解경로를 要約하면 아래와 같다.



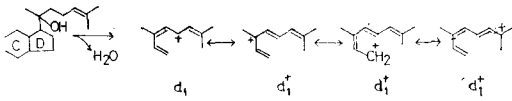
[I], [II], [IV], [V]은 모두 b_1^+ ($M^+ - 60, -59, -58$) 및 b_2^+ ($M^+ - 60 - H_2O, -59 - H_2O - HAC$) ($-58 - H_2O - HAC$)가 比較的 強한 signal로 나타나고

있고, 또 c^+ m/e 59가 出現하고 있다. [V]의 重 水素 置換體인 [VII]에서 a_1^+ 과 c^+ 는 각각 m/e 144, 및 m/e 60으로 遷移되어 나온다. 따라서, c^+ 는 a_1^+ 의 一部分이고 또는 c^+ 는 $C_3H_7O^+$ 以外의 組成은 生覺할 수 없으며 또 그 酸素原子는 三級水酸基 以外는 생각할 수 없다. 따라서 c^+ 는 部分構造 iso-propanol 部分에서 由來된 $CH_3 > C = OH$ 임을 뜻한다. 결과적으로 a_1^+ 은 C_3H_7O 部分과 C_5H_8O 部分으로 構成되어 있으며 C_5H_8O 部分中에 cyclic ether 結合이 存在한다. C_5H_8O 는 pyran環 또는 furan環이 형성될 수 있으나 a_3^+ 에서 a_4^+ 가 生成되는 과정에서 CH_4 가 離脫된은 furan環을 뒷받침하고 있다. a_1^+ 가 生成되는 경로를 표시하면 다음과 같다.

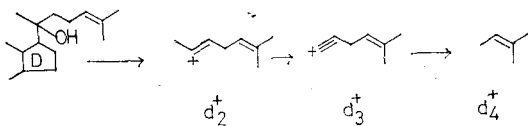


한편, [III] 및 그 유도체 [VI]은 a_1^+ 대신에 d_1^+ m/e 135가 base peak로 나타나고 또한 b_1^+ , b_2^+ 및 c^+ 도 出現되지 않고 있다. d^+ ion도 亦是 [III], [IV]의 side. chain에서 由來된 것이라고 생각된다. 즉, C-20 水酸基의 thermal decomposition과 D-環의 Retro-Diels Alder cleavage가 同

時에 일어나서 生成된 d^+ ion의 각종 ion형이 共鳴에 依하여 安定化되기 때문에 그 peak intensity가 強化된 것으로 解析된다.

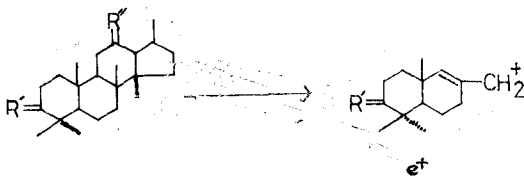


그 外에 [III], [IV]은 side chain에서 由來된 것이라 생각되어지는 d_2^+ m/e 109(96%), d_3^+ m/e 93(55%), d_4^+ m/e 69, 100% 등이 主要한 peak로 나타나고 있으나 이들이 같은 계열의 fragment ion이라는 確證을 잡지는 못하고 있다.



[I], [II], [IV], [V]는 a^+ 계열과 b^+ 계열이 主된 peak이고 [III], [VI]에서는 d^+ 계열의 ion이 主된 peak임으로 鑑別에 應用될 수 있다.

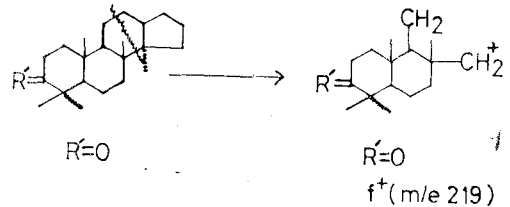
A, B環의 構造 Pentacyclic triterpenoid에 對한 研究에서 C. Djerassi¹⁾는 triterpenoid에 對한 각종 유도체에서 e^+ 의 mass가 變動되는 狀況을 調査하면 A, B環에 對한 酸素置換의 狀況을 파악할 수 있는 것으로 報告하고 있다.



本 研究에서 論하고 있는 tetracyclic triterpenoid에 對한 e^+ 도 같은 性格의 mass變動을 보이고 있으며 各 化合物에서 관측된 e^+ 는 다음과 같다 [I] e^+ (m/e 207, 189), [II] e^+ (m/e 207, 189), [III] e^+ (m/e 207, 189), [VI] e^+ (m/e 249, 189), [V] e^+ (m/e 205), [VI] e^+ (m/e 205). e^+ 계열의 ion이 A, B環과 관련되어 있음은 다음과 같이 證明되었다. Ketone體인 [V], [VI]이 Zimmermann 反應 陽性이므로 이 ketone基는 A環 3番炭素에 位置하고 또 [V]의 重水素 置換體인 [VII]에서 e^+ 는 m/e 205가 消失되고 m/e 207까

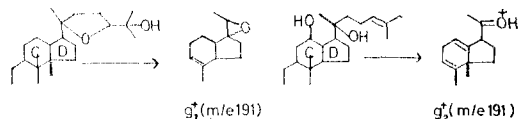
지 遷移된 것으로 確실하다.

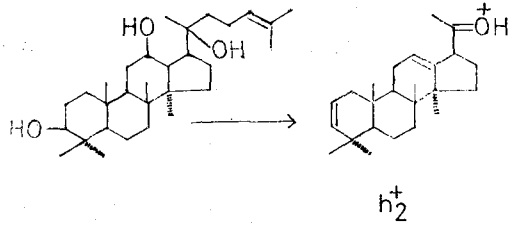
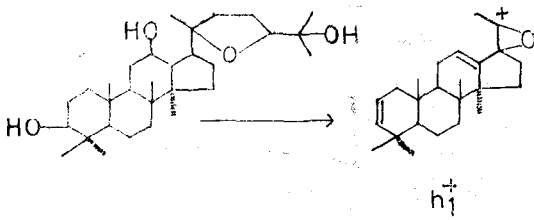
C環의 構造 [VI]의 mass와 [VII]의 mass를 比較할 때 [VI]의 f^+ m/e 219는 [VII]에서 f^+ m/e 221로 變이되고 있어서 f^+ 는 AB環을 含有하면서도 e^+ 보다 $-CH_2-$ 單位가 增加된 것임을 뜻하고 있고 그 起源은 다음과 같이 推定할 수 있다. 따라서 C環의 11番炭素에 對한 酸素置換의 狀況을 f^+ 와 e_1^+ 間의 mass差異에 依해서 파악할 수 있다.



C, D環의 構造 C. Djerassi¹⁾는 A, B環의 酸素置換의 狀況에 따라서 e^+ 의 mass number가 變動된다고하여 鑑別에 應用할 수 있음을 지적하고 있다. 즉, A, B環에 酸素置換基가 없으면 e^+ 는 m/e 191에 나타나서 acetylation 또는 酸化를 하여도 變動되지 않고, A, B環에 酸素置換基가 있으면 e^+ 는 m/e 191에 나타나지 못하고 acetylation 또는 酸化에 依하여 e^+ 의 mass number가 變動된다고 하였다. 그러나, 本報에서 論하고 있는 物質들은 이들 두가지 性格을 같은 物質이 共有하고 있어서 흥미있다. [I], [IV]의 경우 g^+ m/e 191 peak는 e^+ m/e 189에 比하여 3배나 強力하여 A, B環에 酸素置換基가 없는 것으로 처리되기 쉽게 되어 있다.

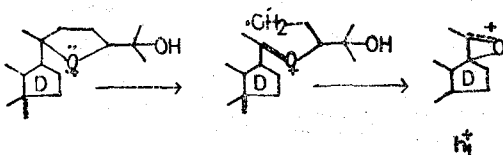
따라서 g^+ 가 tetracyclic triterpenoid의 構造決定에 診斷的 價値가 認定되지 않는지만 그 起源을 確실히 밝혀줄 필요가 있다. g^+ 는 A, B環 以外的 部分에서 由來된 것이며 後述하는 h^+ 에서 生成되었음이 그 metastable ion에 依하여 확인되었다($m'=107.5$).





Tetracyclic Skeleton에 있는 酸素置換基의 數 Tetracyclic skeleton에 있는 酸素의 總數를 알아내는 것은 그 構造推定에 큰 意義가 있다. mass number 300~400 領域은 tetracyclic triterpenoid의 mass spectra에서 比較的 peak가 없이 單調로운 部分이어서 이 領域에 出現되는 h^+ peak는 비록 그 強度가 弱하더라도 쉽게 찾아낼 수 있어서 診斷的 効用性이 大端히 크다고 생각된다. h^+ 의 生成 起源은 다음과 같이 推定된다.

各 化合物에서 관측된 h^+ 는 다음과 같다. [I] h_1^+ m/e 341, [II] h_1^+ m/e 339, [IV] h_1^+ m/e 341, [V] h_1^+ m/e 357, [VII] h_1^+ m/e 359 즉 A, B, C, D環中에 水酸基等 酸素置換 基가 하나도 없으면 h_1^+ 는 m/e 343에 나타나야 하고 水酸基가 하나 導入될 때마다 h_1^+ 의 m/e는 2質量單位씩 減少되고 ketone이 있으면 오히려 14質量單位가 증가함으로 h_1^+ 의 m/e 값에 依하여 A, B, C, D環中에 分布된 水酸基 또는 ketone의 數를 評價할 수 있다. h_1^+ 의 ion構造는 다음과 같은 論理에 依하여 밝혀졌다. 즉 各 化合物에서 관측된 h_1^+ 의 m/e값이 변동되고 있는 모습은 h_1^+ 中에 A環이 包含되어 있음을 實證한다. 따라서 A環부터 始作하여 h_1^+ 의 m/e에 到達되기 위해서는 D環의 끝에 epoxide ion을 假定하지 않고서는 成立되지 않는다. 따라서 h_1^+ 에 對한 ion構造는 一義的으로 定해지며 그 生成經路는 다음과 같이 推定된다.



[III], [VII]의 경우에도 h_1^+ 에 對應되는 h_2^+ 가 각각 다음과 같이 관측된다.

[III] h_2^+ m/e 341, [VI] h_2^+ m/e 357 h_2^+ 의 경우에는 A, B, C環中의 水酸基 또는 ketone의 數와 h_2^+ 의 m/e값 間에는 相互 關聯이 있는데 이 경우 A, B, C, D環에 酸素置換基가 없을 때의 h^+ 의 m/e 값은 基本值 345로 해야 한다. 즉 側鎖가 epoxide 構造를 가졌을 때는 h_1^+ 가 生成되어 基本值가 343이 되고 側鎖가 非環式 構造로 되어 있을 때는 h_2^+ 가 生成되며 그 基本值는 345가 된다.

실 험

本 實驗에 사용된 모든 檢體는 著者들의 研究室에서 分離한 것들이며 그 化學構造等에 關한 問題는 前報^{3,4)}를 參照하기 바란다. Mass spectrum은 Hitachi Model로 測定하였고 測定條件은 大部分의 경우 다음과 같다. Direct Inlet system, sensitivity 10~100, sample heater 200~280°C, ionization voltage 70eV.

d_3 -betulafolianediolone [VIII]; 5ml ampule에 betulafolianediolone [VI] 50mg와 CD_3OD 3ml를 加한 다음 Na 70mg을 溶해시킨 D_2O 용액 1.5ml을 加하여 混合한 다음에 熔封하고 水浴中에서 48時間 煮沸시킨 다음 開封하여 減壓 濃縮하여 얻어진 잔사를 다시 同一한 方法으로 deuteration을 반복한 다음에 얻어진 잔사를 1回 D_2O 1.5ml로 세척한 다음에 CD_3OD 3ml로 再結晶하여 얻어진 針狀結晶을 사용하여 mass spectrum으로 分析한 結果, d_1 -치환체 17.3%, d_2 -치환체 40.1%, d_3 -치환체 42.6%의 물질이 얻어졌다.

결 론

1. 構造가 확정된 바 있는 dammarane系 tetra-

cyclic triterpenoids [I], [II], [III]과 그 유도체 [IV], [V], [VI], [VII]의 mass spectra들을 比較解析한 結果, 構造特異性이 있는 fragment ion $a^+ \sim h^+$ 를 確認하였고 이들 ion의 ion 構造 및 그 生成經路를 推定하였다. 이 推定은 關聯된 從屬的인 ion, metastable ion 및 dehydration mass에 依하여 뒷받침되었다.

2. 이들 fragment ion들중 side chain의 脫落에 依하여 生成되는 h系列의 fragment ion이 나타내는 mass number는 open side chain의 경우에는 epoxy side chain의 경우보다 2質量單位가 높게 나온다. 이를 逆利用하여 tetracyclic triterpenoid의 mass spectra에 依하여 side chain의 構造를 測定할 수 있다.

謝辭 Mass spectra를 測定해 주신 日本 京都 大學藥學部 마스스펙트럼研究室의 加藤 旭博士에게 깊이 感謝한다.

문 헌

1. Karliner, J. and Djerassi, C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 1945(1977).
2. Budzikiewicz, H., Wilson, J.M. and Djerassi, C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963).
3. Waller, G.R.: *Biochemical Appl. of Mass spectr.*, Willey interscience, 1972, p. 351.
4. Chi, H.J. and Han, B.H.: *J. Pharm. Soc. Korea*, 19, 159 (1975).