

## 蔓蓼의 Triterpenoid 성분에 관한 연구

金 榮 姬 · 李 仁 蘭

梨花女子大學校 藥學大學

(Received February 21, 1984)

### Triterpenoids from *Codonopsis pilosula*

Young Hee Kim and Ihn Rhan Lee

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

**Abstract**—In the previous paper the isolation of  $\alpha$ -spinasterol and its glucoside from ether fraction of *Codonopsis pilosula* was reported. In continuation of earlier work, further component was investigated and led to isolation three triterpenoids. Repeated column chromatography on silica gel of the ether extract resulted in the isolation of taraxeryl acetate, mp 298, ~301°, friedelin, mp 263~265°, and taraxerol, mp 287~8°. All the compounds were identified on the basis of spectral data and chemical reactions.

前報<sup>1)</sup>에서 蔓蓼 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannfeldt (Campanulaceae)의 成分中 sterol과 그의 glycoside를 分離하여서 그들의 化學構造를 確認한 바 있다.

계속해서 著者들은 蔓蓼뿌리의 에틸가용부에서 3가지 物質을 單離하여 (化合物 1, 化合物 2, 化合物 3) 理化學的 및 spectral data에 依하여 化合物 1은 taraxeryl acetate, 化合物 2는 friedelin, 化合物 3은 taraxerol로서 同定하였다.

### 實 驗 方 法

**抽出 및 單離**—蔓蓼의 뿌리를 細切하여 에타놀로 抽出해서 얻은 엑기스에 물을 加하고 Et<sub>2</sub>O로 抽出하여 Et<sub>2</sub>O ext.를 얻었다. 이 Et<sub>2</sub>O ext.를 silicagel column에 걸쳐 hexane-CHCl<sub>3</sub>(1:1), hexane-CHCl<sub>3</sub>(1:2), CHCl<sub>3</sub> 및 CHCl<sub>3</sub>-EtOH로 gradient elution시켜 10개의 fraction을 얻었다. 이 中 fraction 4를 silicagel column에서 hexane-acetone(40:1)로 elution 시켜서 化合物 1, fraction 5를 hexane-acetone(20:1)로 elution시켜 化合物 2 및 3을 얻었다.

化合物 1—mp 298~301°,  $[\alpha]_{18}^D = +10.5^\circ$  (c=0.8, CHCl<sub>3</sub>)

Liebermann-Burchard test: Positive (pink)

UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$  nm (log  $\epsilon$ ): 206 (3.80)

IR  $\nu_{max}^{KBr}$  cm<sup>-1</sup>: 1729, 1252 (acetate), 1645, 814 (trisubstituted double bond)

NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS):  $\delta$  0.83 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.87 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.91 (9H, s, 3×CH<sub>3</sub>), 0.95 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>), 1.10 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 4.45 (1H, dd, J=7 and 9Hz, H-3), 5.51 (1H, dd, J=4 and 8 Hz, H-15)

MS m/e(%): 468(M<sup>+</sup>), 344 (A/B/C ring, 8.3), 329 (344-CH<sub>3</sub>, 5.2), 284 (344-CH<sub>3</sub>COOH, 4.7), 269 (284-CH<sub>3</sub>, 13.0) 204 (D/E ring, 66.1), 189 (204-CH<sub>3</sub>, 20.8)

化合物 2—mp 263~5°,  $[\alpha]_D^{18} = -25.5^\circ$  (c=0.5, CHCl<sub>3</sub>)

Liebermann-Burchard test : Positive (red)

Zimmermann test : Positive

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> : 1717 (C=O)

NMR(CDCl<sub>3</sub>, TMS) :  $\delta$  0.72 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.87 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.88 (3H, d, J=6.7 Hz, CH<sub>3</sub>), 0.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.00 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>), 1.05 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.18 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.20—2.40 (3H, m, CH<sub>2</sub>-CO-CH)

MS m/e(%) 426 (M<sup>+</sup>, 26), 411 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>, 5.5), 341 (1.0), 302 (17.3), 273 (39.0), 205 (37.9)

化合物 3—mp 287~8°,  $[\alpha]_{18}^D = \pm 0$  (c=0.81, CHCl<sub>3</sub>)

Liebermann-Burchard test : Positive (pink)

UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ) : 206 (3.76)

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> : 3480 (OH), 1642, 813 (trisubstituted double bond)

NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS) :  $\delta$  0.81 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.83 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.93 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.94 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.98 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.10 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.15 (1H, m, 3 $\alpha$ -H), 5.52 (1H, dd, J=4 and 8 Hz)

MS m/e(%) : 426 (M<sup>+</sup>, 7.1), 411 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>, 2.9), 302 (45.5), 287 (302-CH<sub>3</sub>, 38.8), 269 (287-H<sub>2</sub>O, 15.1), 204 (D/E ring, 100), 189 (204-CH<sub>3</sub>, 22.0)

化合物 1의 Saponification—化合物 1 20mg을 5% 알콜성 KOH 용액 20ml를 加하여 水浴上에서 4時間 加熱하였다. 反應液을 濃縮한 後 물을 加하고 ether로 抽出한 後 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 脫水하여 濃縮하고 메타놀로 再結晶해서 mp 288~290°의 化合物을 얻었다.

이 化合物은 TLC上에서 化合物 3과 一致하여 混融試驗에서 融點降下가 없었고, IR Spectrum도 一致하므로 化合物 3으로 確認하였다.

化合物 1의 酸處理—化合物 1 20mg에 HOAc 5ml 및 c-HCl 0.5ml를 加하여 水浴上에서 10分間 加熱한 後 反應液에 물을 加하고 析出하는 沈澱을 여과한 後 H<sub>2</sub>O로 洗滌해서 乾燥한 後 메타놀로 再結晶하여 無色 板狀 結晶의 化合物 7을 얻었다.

mp 239~41°,  $[\alpha]_{18}^D = +79.3^\circ$  (c=0.25, CHCl<sub>3</sub>)

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 1737, 1242 (acetate), 1660, 822, 815, 800 (trisubstituted double bond)

化合物 3의 acetylation—化合物 3 20mg에 무수초산 및 피리딘을 각각 5ml씩 加하고 室溫에서 하루밤 放置한 後, 反應液에 물을 加해서 析出하는 沈澱을 여과하고 석유에틸로 再結晶하여 mp 296~300°의 化合物을 얻었다.

이 化合物은 化合物 1과 混融試驗에서 融點降下가 없었으며, TLC, IR上에서 一致하였다.

化合物 3의 酸處理—化合物 3 50mg에 HOAc 5ml 및 c-HCl 0.5ml를 加하여 水浴上에서 10分間 加熱한 後 反應液에 물을 加하여 析出하는 沈澱을 여과하고, H<sub>2</sub>O로 洗滌한 後 乾燥하고 메타놀로 再結晶을 反復하여 無色の 化合物 6을 얻었다.

mp : 194~6°,  $[\alpha]_D^{18} = +86.7^\circ$  (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>)

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3300 (OH), 1657, 825 (trisubstituted double bond)

NMR (CDCl<sub>3</sub>, TMS) :  $\delta$  0.80 (9H, s, 3×CH<sub>3</sub>), 0.88(3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.01 (6H, s, 2×CH<sub>3</sub>), 1.08 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.20 (1H, t, J=8 Hz, H-3), 5.10 (1H, m, H-12)

MS m/e(%) : 426 (M<sup>+</sup>, 6.9), 411 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>, 1.5), 218 (D/E ring, 100), 207 (A/B ring, 12.4), 203 (218-CH<sub>3</sub>, 25.3), 189 (207-H<sub>2</sub>O, 16.0).

化合物 6의 Acetylation—化合物 6 25mg을 化合物 3과 같은 條件으로 acetylation시키고, 에타놀로 再結晶하여 無色 板狀의 acetate 7을 얻었다.

mp 239~41°,  $[\alpha]_D^{25} = +79.3^\circ$  (c=0.25, CHCl<sub>3</sub>)

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$  : 1737, 1242 (acetate), 1660, 822, 815, 800 (trisubstituted double bond)

### 實驗結果 및 考察

化合物 1, mp 298~301°, 은 Liebermann-Burchard test에 陽性이고, 그의 IR spectrum은 1729, 1252cm<sup>-1</sup>에서 Acetate, 1645, 814cm<sup>-1</sup>에서 trisubstituted double bond로 推定되는 peak들이 나타났다. 化合物 1을 酸으로 處理하면  $\beta$ -Amyrin Acetate, mp 239~41°가 된다. Pentacyclic triterpenoid 계열에서 二重結合이 C<sub>7-8</sub>, C<sub>3-4</sub>, C<sub>5-6</sub>, C<sub>14-15</sub>에 있으면 酸에 依해 isomerization되어 二重結合이 C<sub>12-13</sub>로 移動되므로,<sup>2-3)</sup> 化合物 1은  $\beta$ -Amyrin Acetate와 二重結合位置가 다른 異性體임을 알 수 있다. 이 化合物의 NMR spectrum에서는  $\delta$  0.83에서 1.10ppm 사이에서 8개의 angular methyl기의 singlet가 나타나고,  $\delta$  2.03ppm에서 하나의 acetoxy기의 singlet signal이 나타나며,  $\delta$  4.45ppm에서 secondary acetoxy기를 갖는 탄소에 結合된 하나의 proton이 doublets of doublet (J=7 및 9Hz),  $\delta$  5.51ppm에서 trisubstituted double bond의 olefinic proton이 doublets of doublet (J=4 및 8Hz)로 나타난다. 따라서 化合物 1은 하나의 acetoxy group을 갖는 pentacyclic triterpenoid계의 化合物이고, acetoxy기는 C-3에  $\beta$ -結合된 것으로 推定되며 olefinic proton의 splitting pattern이 doublets of doublet로 나타나는 것으로 봐서, olean-12-ene계열이 아니고, Taraxer-14-ene 계열의 化合物로 推定된다.<sup>4-7)</sup> 이와같은 結果는 Mass spectrum을 통해서 더욱 확실히 되었다. m/e 468에서 molecular ion peak가 나타나고, ring D에서 retro Diels Alder 분해가 일어나서 A, B, C ring 부분을 포함한 fragment ion peak m/e 344가 나타나고 있다. 이 fragment ion에서 C-8의 angular methyl기가 allylic 활성화되어 떨어져고, 다음 C-3의 acetoxy기가 떨어져서 생긴 ion peak들이 각각 m/e 329 및 m/e 269에서 나타나고 있다. 이외에도 C<sub>11-12</sub> 및 C<sub>8-14</sub> bond의 분열에 의해서 生成된 fragment ion이 m/e 204에서 나타나고 있으며, 이 ion에서 methyl기가 하나 떨어져서 m/e 189에서 나타나는 것으로 봐서도 二重結合이 C<sub>14-15</sub>에 位置한 Taraxer-14-ene이며,<sup>8-11)</sup> acetoxy기는 A/B/C ring에 位置함을 알 수 있다.

따라서 化合物 1은 Taraxeryl Acetate로 同定하였다.

이 化合物 1을 saponification시키면 化合物 3이 되고, 化合物 3을 acetylation 시키면 化合物 1이 되므로, 化合物 3은 Taraxerol로 同定된다.

化合物 3의 IR, NMR, Mass spectrum 및 酸處理 結果는 문헌기재와 一致하였다.<sup>7,10-11)</sup>

化合物 2, mp 263~5°, 도 Liebermann-Burchard 및 Zimmermann test에 positive이고, IR spectrum을 보면 1717cm<sup>-1</sup>에서 carbonyl peak로 推定되는 peak이외에는 特徵인 peak가 없으며, NMR spectrum에서는  $\delta$  0.72ppm에서 1.18ppm사이에 7개의 tertiary methyl singlet signal과  $\delta$  0.88ppm에서 J=6.7 Hz의 doublet로 나타나는 하나의 secondary methyl group,  $\delta$  2.20~2.40ppm 사

이에서 multiplet로 나타나는 3개의 proton은 cyclohexanone의  $\alpha$  위치에 존재하는 proton으로推定되므로,<sup>12-17)</sup> 이 化合物은 化合物 1 및 3과는 달리, OH group이 없고 ketone이 있는 triterpenoid로 推定된다.<sup>18-19)</sup> 이 化合物의 Mass spectrum은 molecular ion peak가 m/e 426에서 나타나며, 이외에도 friedelin의 特徵의인 fragment ion들이<sup>19-21)</sup> m/e 341, 302, 273 및 205 등에서 나타나는 것으로 보아 friedelin-3-one 즉 friedelin 임을 同定할 수 있었다.

## 結 論

蔓蓼 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannfeldt (Campanulaceae)의 뿌리에서 3가지의 triterpenoid를 分離하여서 여러가지 理化學的 實驗 및 spectral analysis를 實施하여서 그들의 化學構造를 밝혔다.

蔓蓼에서 分離해낸 3가지의 triterpenoid는 各各 taraxeryl acetate, mp 298~301°,  $[\alpha]_D^{25} = +10.5^\circ$  (c=0.8, CHCl<sub>3</sub>), friedelin, mp 263~5°,  $[\alpha]_D^{25} = -25.5^\circ$  (c=0.5, CHCl<sub>3</sub>), taraxerol, mp 287~8°,  $[\alpha]_D^{25} = \pm 0$  (c=0.81, CHCl<sub>3</sub>) 임을 알았다.

## 文 獻

1. I.R. Lee, Y.H. Kim and S.B. Park, Sterols and Sterylglycosides from the Roots of *Codonopsis pilosula*. *Kor. J. Pharmacog.* 13, 129 (1982).
2. J.M. Beaton, F.S. Spring, R. Stevenson, and J.L. Stewart, Triterpenoids. part XXXVII. The Constitution of Taraxerol. *J.C.S.* 2131 (1955).
3. B.D. Paul and P.K. Bose, Chemical Examination of the Bark of *Luvunga scandens* Ham. *J. Ind. Chem. Soc.* 44, 659 (1967).
4. B. Talapatra, A. Basak and S.K. Talapatra, Terpenoids and Related Compounds. Part XX. Careaborin, A New Triterpene Ester from the Leaves of *Careya arborea*. *J. Ind. Chem. Soc.* 814 (1981).
5. R.E. Corbett and S.D. Cumming, Lichens and Fungi. Part X. 14 $\alpha$ -Taraxerane. *J.C.S. Perkin I*, 2827 (1972).
6. W.H. Hui and M.L. Sung, An Examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. The Occurrence of Epitaraxerol and other Triterpenoids. *Aust. J. Chem.* 21, 2137 (1968).
7. A.S.R. Anjaneyuru and A.V. Ramaprasad, Wagner-Meerwein Rearrangement in Taraxerol. *Ind. J. Chem.* 20B, June, 443 (1981).
8. H. Budzikiewicz, J.M. Wilson, and C. Djerassi, Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXXII. Pentacyclic Triterpenes. *J. Am. Chem. Soc.* 85, 3688 (1963).
9. W.S. Woo and H. Wagner, 3-Acetylaeuritolic Acid from the Seeds of *Phytolacca americana*. *Phytochem.* 16, 1845 (1977).
10. W.H. Hui and M.M. Li, Structures of Eight New Triterpenoids and Isolation of other Triterpenoids and Epi-ikshusterol from the stems of *Lithocarpus cornea*. *J.C.S. Perkin I*, 23 (1976).
11. A. Dasgupta, A. Goswami, T.K. Ray, A. Nath and H.N. Khastgir, Reactions of Some Triterpenes with Mercuric Acetate: An Unusual Reaction with Taraxeryl Acetate. *Indian. J. Chem. Chem.* 19B, 165 (1980).
12. C. Betancor, R. Freire, A.G. Gonzales, J.A. Salazer., C. Pascard and T. Prange, Three Triterpenes and other Terpenoids from *Catha cassinoides*. *Phytochem.* 19, 1989 (1980).
13. J. Protiva, H. Skorkovska, J. Urban and A. Vystrcil, Triterpenes and steroids from *Ganoderma applanatum*. *Coll. Czecho. Chem. Comm.* 45, 2710 (1980).
14. L.H. Zalkow, B.A. Ekpo and N.I. Burke, Triterpenes of *Isocoma Wrightll.* *Phytochem.* 16, 1610 (1977).
15. W.H. Hui and M.M. Li, Six new triterpenoids and other Triterpenoids and steroids from Three *Quercus* Species of Hong Kong. *J.C.S. Perkin I*, 897 (1977).

16. S. Ansari, Y.C. Joshi, M.P. Dobhal and B.C. Joshi, Chemical Constituents of the Stem of *Roylea elegans* Wall. *Pharmazie* 37, 70 (1982).
17. B.S. Joshi, V.N. Kamat, and N. Vismanathan, Triterpenes of *Salacia prinoides* DC. *Tetrahedron Letters*, 29, 1365 (1973).
18. S.P. Gunasekera and M.U.S. Sultanbawa, Four New Friedelane Carboxylic Acids From the Bark of *Trichadenia zeylanica* THW. *ibid.* 2837 (1973).
19. J.L. Courtney, Studies in Mass Spectrometry Triterpenoids: Structure Assignment to Some Friedelane Derivatives. *ibid.* 13 (1963).
20. D.J. Abraham, J. Trojanek, H.P. Münzing, H.H.S. Fong, and N.R. Farnsworth, Structure Elucidation of Maytenonic Acid. A New Triterpene from *Maytenus senegalensis*. *J. Pharm. Sci.* 60, 1085 (1971).
21. H. Hirota, Y. Moriyama, T. Tsuyuki, Y. Tanahashi, T. Takhashi, Y. Katoh, and H. Satoh, The High Resolution Mass Spectra of Shionane and Friedelane Derivatives. *Bull. Chem. Soc. Japan.* 48, 1884 (1975).