

도토리에서 분리한 Dotorioside I, II의 구조

임광식* · 손미정 · 이시강

부산대학교 약학대학

(Received December 24, 1993)

Structures of Dotorioside I and II Obtained from the Fruits of *Quercus acutissima* CARRUTHERS

Kwang Sik Im*, Mee Jeong Son and See Kang Lee

College of Pharmacy, Pusan National University, San 30, Jangjeun-dong, Gumjeung-ku, Pusan 609-735, Korea

Abstract—From the methanolic extractive of the fruits of *Quercus acutissima* CARRUTHERS (Fagaceae) a mixture (QC-A saponin) of two ester glycosides, which were named as dotorioside I(3) and II(4), was separated by silica gel column chromatography and HPLC. The structures of these two glycosides including their genuine aglycones(1,2) were elucidated as 1: 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid, 2: 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid, 3: 28-O- β -D-glucopyranosyl ester of 1, 4: 28-O- β -D-glucopyranosyl ester of 2, respectively, on the basis of chemical and spectral evidence.

Keywords □ *Quercus acutissima* CARRUTHERS, Fagaceae, QC-A saponin, dotorioside I, II, ^{13}C -NMR, CD spectrum.

한국의 산야에 널리 분포된 참나무, 굴참나무, 상수리나무 등의 열매를 도토리라 하여 민간에서 기어나 지사제로 이용되고 있다. 저자는 식물로부터 생물활성을 가지는 성분을 분리하는 연구의 일환으로 참나무(*Quercus acutissima* CARRUTHERS, Fagaceae) 열매의 화학성분 연구에 착수하였다. 참나무 열매의 화학성분으로 triterpene 이나 그 배당체는 현재까지 보고된 바 없고 동속식물인 *Quercus ilex* L.로 부터 oleanane 및 ursane계의 triterpene 각각 1종씩과 1종의 배당체 sericosid¹⁾가 분리 보고된 바 있다. 저자는 도토리의 메탄올엑기스를 상법에 따라 처리하여 crude 사포닌을 얻고 이를 실리카젤 컬럼 크로마토그래피에 의하여 TLC 상에서는 단일 spot를 나타내나 ^{13}C -NMR에 의하여 화합물 3과 4의 혼합물로 밝혀진 사포닌을 분리, 이를 QC-A saponin이라 칭하였다. 이를 무수초산과 피리딘으로 아세테이트체로한 다음 HPLC를 사용하여 혼합물의 성분인 2종의 에스테르배당체를 분리하

였다. 이를 dotorioside I 및 II로 각각 명명하고 그 구조를 화학적 및 분광학적 방법에 의하여 결정하였으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

실험 방법

기기 및 시약

용점은 Fisher 미량용점측정 장치(hot-stage type)를 사용하고 미보정치를 기록하였다. 적외선흡수 스펙트럼(IR)은 Hitachi IR spectrophotometer 260-30을, 자외선흡수 스펙트럼(UV)은 Hitachi UV-visible spectrophotometer 330을, 선광도는 JEOL DIP-181 polarimeter를, CD 스펙트럼은 JASCO UV/ORD-6 spectrophotometer를 각각 사용하여 측정하였다. 질량분석(Mass)스펙트럼은 JASCO New-D-300 스펙트로메터를 사용하였다. 핵자기공명 스펙트럼(^1H -NMR, ^{13}C -NMR)은 Bruker AC200(200/50 MHz) 및 JASCO JNM FX-90Q(90 MHz) spectrometer를

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

사용하고 TMS를 내부표준물질로 하여 측정하였다. HPLC는 Waters제(RI detector)를 사용하였으며, 컬럼 크로마토그래피용 충전제는 Kiesel gel 60(70~230 mesh, Merck)제를, TLC는 Kiesel gel 60F254 (Merck, precoated plate)를 사용하고 발색제로 1% $Ce(SO_4)_2/10\%$ H_2SO_4 를 사용하였다.

추출 및 분리

경북 청송에서 10월에 채집한 음건 시료(8 Kg)를 메탄올로 3회 추출하고 전추출액을 감압증류하여 메탄올엑기스(850 g)를 얻었다. 이 엑기스를 물과 1-butanol(1 : 1)에 분배하여 얻은 1-butanol분획을 농축하여 엑기스(125 g)를 얻고, 이를 소량의 메탄올에 녹여 대과량의 에틸에 적가하여 침전(36 g)을 얻었다. 이 침전의 일부(8 g)를 메탄올에 녹이고 여기에 실리카겔(20 g)을 가한 다음 감압농축하여 실리카 겔에 물질을 흡착시켰다. 이를 클로로포름으로 만든 실리카 겔(250 g) 컬럼의 상부에 가하고 이를 클로로포름 메탄올(5 : 1) 용매로 용출하여 QC-A 사포닌(4.2 g)과 기타 화합물(3.4 g)을 얻었다. QC-A 사포닌을 90% acetonitrile의 수용매로 재결정하여 침상결정을 얻었다. QC-A 사포닌: mp, 265~267°, $[\alpha]_D^{20} + 95^\circ$ (c=1.52, pyridine), IR(KBr, cm^{-1}): 3400(br., OH), 1720(ester), ^{13}C -NMR(50 MHz, d_5 -pyridine) δ : 177.5, 177.2

QC-A 사포닌의 산기수분해

QC-A 사포닌(3 g)의 메탄올 용액(250 ml)에 20% 황산의 수용액(100 ml)을 가하고 2시간 동안 수욕상에서 환류하였다. 반응액을 감압증류하여 메탄올을 제거한 다음 에틸아세테이트로 3회 추출하였다. 전추출액을 합하여 포화중조수, 물의 순으로 세척하고 이를 무수 황산마그네슘으로 건조한 다음 감압농축하여 aglycone(2.4 g)을 얻었다. 이를 $CHCl_3$ -MeOH(10 : 1)을 전개용매로 한 실리카겔 컬럼크로마토그래피(100 g)를 행하여 화합물(1, 480 mg)과 화합물 2가 2차적으로 변하여 생성된 diene 화합물(630 mg)을 각각 얻었다.

1: mp, 293~295°(MeOH-acetone), $[\alpha]_D^{20} + 26^\circ$ (c=1.27, pyridine), Anal. Calcd. for $C_{30}H_{48}O_6$: C, 71.37; H, 9.59. Found: C, 71.39; H, 9.62. IR(KBr, cm^{-1}): 3410(br., OH), 1700(COOH). 1H -NMR(200 MHz, $CDCl_3$ - CD_3OD =10 : 1) δ : 0.74, 0.81(3H each, both

s), 0.97(6H, s), 1.01, 1.26(3H each, both s)(6x tert. Me), 3.10(1H, br. s, 18 β -H), 3.32(1H, m, 19 β -H), 5.43(1H, t-like, 12-H). Mass(%) m/z: 504(M^+ , 0.3), 486(M^+ - H_2O , 0.7), 264(RDA D/E, 41.9), 246(264- H_2O , 67.0), 201(264- H_2O -COOH, 100). High mass (m/z): 264.1725($C_{16}H_{24}O_3$), 246.1646($C_{16}H_{22}O_2$), 201.1647($C_{15}H_{21}$). ^{13}C -NMR(50 MHz, d_5 -pyridine) δ : 181.1(s, C-28), 145.2(s, C-13), 124.0(s, C-12), 81.5(d, C-3), 78.6(d, C-19), 69.0(d, C-2), 67.0(t, C-24).

화합물 1의 acetyl화

화합물 1(20 mg)을 무수초산(2 ml)과 피리딘(2 ml)에 녹이고 이를 35°에서 12시간 교반하였다. 반응액을 빙수에 가하고 30분간 교반한 다음 ethyl acetate로 3회 추출하였다. 전추출물을 합하여 5% 염산수용액, 포화 중조수, 물의 순으로 세척하고 무수 황산마그네슘으로 건조한 다음 진공농축하여 반응잔사를 얻었으며 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(n-hexane-ethyl acetate 3 : 1)에 의하여 정제하여 triacetate체(**1a**, 22 mg)을 얻었다.

1a: amorphous powder, $C_{36}H_{54}O_9$ (M^+), IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 3510(w, OH), 1730, 1225(OAc), 1695(COOH). 1H -NMR(90 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.72, 0.90(3H each, both s), 0.98(6H, s), 1.08, 1.26(3H each, both s)(6x tert. Me), 1.98, 2.02, 2.09(3H each, all s)(3 \times OAc), 3.09(1H, br. s, 18 β -H), 3.34(1H, d, J=4 Hz, 19 β -H), 3.60, 3.82(2H, AB_q, J=12 Hz, - CH_2 OAc), 5.10(2H, m, 2 β -H & 3 α -H), 5.41(1H, m, 12-H). Mass(%) m/z: 630(M^+ , 1), 264(RDA D/E, 37.6), 246(264- H_2O , 74.8), 219(264-COOH, 12.6), 201(264- H_2O -COOH, 94.1).

화합물 1a의 diazomethane에 의한 methyl화

화합물 **1a**(20 mg)의 메탄올(5 ml)용액에 diazomethane의 에테르용액을 가하여 12시간 실온에서 방치하였다. 반응액을 감압농축하여 methyl ester triacetate체(**1b**, 22 mg)을 얻었다.

1b: amorphous, $C_{37}H_{56}O_9$ (M^+), IR($CHCl_3$, cm^{-1}): 1720, 1220(OAc and ester), $[\alpha]_D^{20} + 18.3^\circ$ (c=1.20, $CHCl_3$), 1H -NMR(200 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.67, 0.89(3H each, both s), 0.97(6H, s), 1.08, 1.20(3H each, both s)(6 \times tert. Me), 1.97, 2.00, 2.07(3H each, all s)(3 \times OAc), 3.12(1H, br. s, 18 β -H), 3.31(1H, d, J=4 Hz,

19 β -H), 3.53, 3.90(2H, AB_q, J=12 Hz, -CH₂OAc), 3.63(3H, s, -COOCH₃), 5.09(2H, m, 2 β -H & 3 α -H), 5.42(1H, t-like, 12-H), mass(%) m/z: 644(M⁺, 5.1), 585(M⁺-AcOH, 5.0). ¹³C-NMR(50 MHz, CDCl₃) δ c: 179.0(C-28), 144.8(C-13), 123.4(C-12), 81.2(C-3), 75.6(C-19), 70.1(C-2), 66.0(C-24). 최종적으로 이 화합물은 arjungenin methyl ester triacetate체 표준품과 TLC(benzene-acetone 5 : 1, n-hexane-ether 3 : 1) IR(CHCl₃), ¹H-NMR 및 mass spectrum에 의하여 직접 비교 동정하였다.

QC-A 사포닌의 crude hesperidinase에 의한 효소분해

QC-A 사포닌(220 mg)을 아세테이트 완충액 용액(pH 5.2, 150 ml)에 녹이고 여기에 crude hesperidinase(200 mg)를 가한 다음 32°에서 24시간 교반하였다. 반응액에 메탄올(10 ml)를 가하고 잠시 가온하여 과량의 효소를 불활성화 한 다음 에틸 아세테이트(150 ml)를 첨가하여 celite 막을 통과시켜 여과하였다. Celite층은 동일 용매로 수회 세척하였다. 세액과 여액을 합하여 포화식염수로 씻고 무수 황산마그네슘으로 건조한 다음 감압농축하여 반응잔사(140mg)를 얻었다. 여기에서 얻은 aglycone은 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectrum에서 화합물 **1**과 **2**의 혼합물임이 밝혀졌으며 이는 컬럼 크로마토 그래피에 의하여 분리할 수 없었다.

화합물 **1,2**의 methyl ester triacetate체

효소분해로 얻은 화합물 **1,2**의 혼합물(130 mg)을 메탄올(200 ml)에 녹이고 여기에 diazomethane의 에테르용액을 가하여 실온에서 12시간 방치하였다. 반응의 완결을 TLC로 확인한 다음 용매를 감압하에서 유거하여 methyl ester체(145 mg)를 얻고 이를 무수 초산(20 ml)과 피리딘(15 ml)으로 위와 같은 방법으로 아세틸화 하여 methyl ester triacetate체(190 mg)를 얻었다. 이를 HPLC: column; μ -Porasil \times 3, mobile phase: n-hexane-EtOAc-CHCl₃(4.5 : 1 : 1), flow rate: 5 ml/min.,에 의하여 화합물 **1b**(54 mg)와 **2a**(78 mg)를 각각 분리하였다. **1b**: 위의 산가수분해에 의하여 얻은 화합물 **1b**와 일치함을 TLC, IR(CHCl₃) 및 ¹H-NMR(CDCl₃)에 의하여 확인하였다.

2a: amorphous, [α]_D¹⁸ +18.0(c=1.10, CHCl₃),

C₃₇H₅₆O₉(644.3938, high mass), IR(CHCl₃, cm⁻¹): 3510(w, OH), 1730, 1238(OAc and ester). ¹H-NMR(200 MHz, CDCl₃) δ : 0.69, 0.90, 1.01, 1.20, 1.25(3H each, all s)(5 \times tert. Me), 0.94(3H, d, J=6 Hz, 20-Me), 1.98, 2.03, 2.09(3H each, all s)(3 \times OAc), 2.59(1H, s, 18 β -H), 3.60(3H, s, -COOCH₃), 3.61, 3.86(2H, AB_q, J=12 Hz, -CH₂OAc), 5.10(2H, m, 2 β -H & 3 α -H), 5.34(1H, t-like, 12-H). Mass(%)m/z: 644(M⁺, 20.1), 584(M⁺-AcOH, 100), 278(RDA D/E, 9.0), 260(278-H₂O, 16.5), 219(278-COOCH₃, 17.2), 201(278-H₂O-COOCH₃, 29.8). ¹³C-NMR(CDCl₃) δ c: 178.7(C-28), 170.6(-COOCH₃), 139.8(C-13), 128.0(C-12), 75.6(C-3), 72.8(C-19), 70.2(C-2), 66.0(C-24). CD(MeOH): λ _{max} 220 nm(Δ _E = -3.8), [θ]₂₂₀ = 11800 (neg. max.), [θ]₂₅₀ = 0, [θ]₂₁₀ = 0

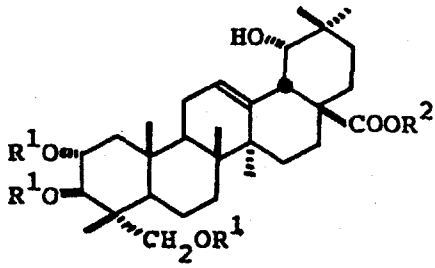
당의 확인

QC-A 사포닌(5 mg)을 anhydrous 9% HCl-MeOH(2 ml)에 녹이고 1시간 동안 환류 반응시켰다. 반응액을 Ag₂CO₃로 중화한 후 감압하에서 용매를 유거하여 생성물을 얻었다. 이를 피라딘에 녹이고 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)로 처리하여 trimethylsilyl(TMS)화 하고 TMS화한 D-글루코스 표준품과 GLC: 컬럼; 5% 실리콘 SE-52 on chromosorb WAWDMCS 80~100 mesh, 3 mm \times 2 m, 컬럼온도; 190°, N₂ 유속; 32 ml/min(t_R = 5'56")에 의하여 D-글루코스를 확인하였다.

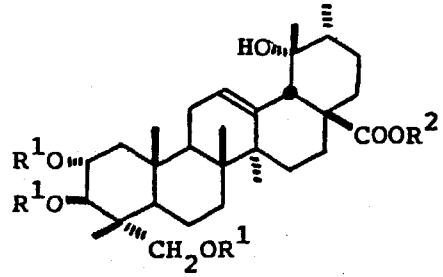
QC-A 사포닌으로부터 dotorioside II의 분리

QC-A 사포닌의 아세틸화-QC-A 사포닌(650 mg)을 무수초산(5 ml)과 피리딘(10 ml)에 녹이고 이 용액에 촉매량의 4-dimethylaminopyridine(4-DMAP)를 가한 후 32°에서 12시간 반응시켰다. 반응액을 위에서와 같이 처리하여 얻은 생성물(850 mg)을 다음 조건의 HPLC를 행하여 dotorioside II의 완전 아세테이트체(**4a**, 280 mg)와 화합물 **5**의 아세테이트체 **5a**(350 mg)를 분리하였다. HPLC: 컬럼; μ -Porasil (semi분취용), mobile phase; n-hexane-EtOAc(12 : 10), 유속; 5 ml/min.

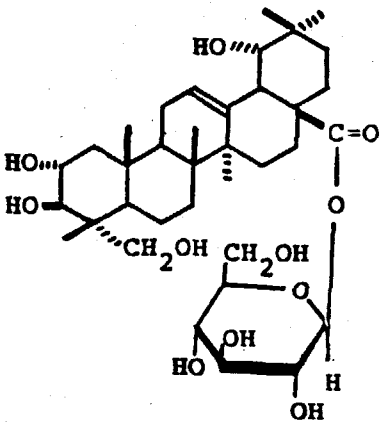
4a: amorphous, [α]_D¹⁹ +8.5°(c=1.34, CHCl₃), IR(CHCl₃, cm⁻¹): 1730, 1250(OAc & ester), ¹H-NMR(90 MHz, CDCl₃) δ : 0.73, 0.80, 1.11, 1.21, 1.26(3H



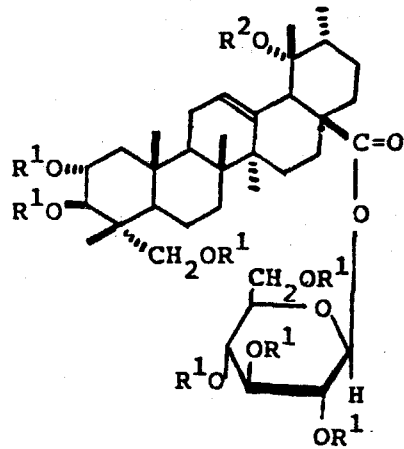
1: R¹ = R² = H, arjungenin
 1a: R¹ = Ac, R² = H
 1b: R¹ = Ac, R² = Me



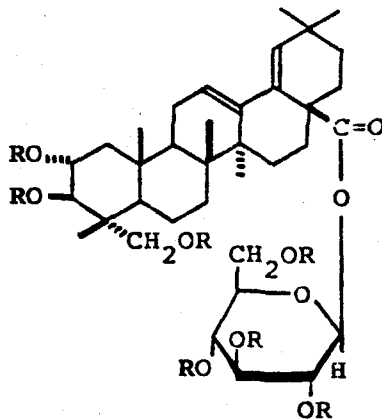
2: R¹ = R² = H,
 2a: R¹ = Ac, R² = Me



3: dotorioside I



4: R¹ = R² = H, dotorioside II
 4a: R¹ = Ac, R² = H



each, all s)(5×tert. CH₃), 0.97(3H, d, J=6 Hz, 20-Me). **5a**: amorphous, $[\alpha]_D^{25} -6.6^\circ$ (c=1.80, CHCl₃), IR(CHCl₃, cm⁻¹): 1730, 1225(OAc & ester), UV (EtOH): λ_{max} 215($\epsilon=15,800$).

화합물 4a와 5a의 탈아세틸화-화합물 4a(170 mg)와 화합물 **5a**(210 mg)의 각각을 85% 메탄올의 수용액에 녹여 만든 0.1M-K₂CO₃ 용액(10 ml)에 녹이고 실온에서 5시간 교반하여 반응하였다. 반응액을 2N-HCl로 중화하고 에틸 아세테이트와 1-butanol의 혼합용매로 3회 추출하였다. 전추출액을 수세한 후 무수 황산마그네슘으로 건조한 다음 감압하에서 농축하여 dotorioside II(**4**, 150 mg)와 dotorioside I(**3**)의 19 α -OH가 탈수하여 생성된 diene화합물(**5**, 210 mg)을 각각 얻었다.

compound 4: colorless needles(CHCl₃-MeOH-HO=7:3:1, lower layer), mp. 285~287°(de comp.), $[\alpha]_D^{25} +8.0^\circ$ (c=1.20, MeOH), Anal. Calcd. for C₂₆H₅₈O₁₁·H₂O: C, 63.12; H, 8.84, Found: C, 62.94; H, 8.78. IR(KBr, cm⁻¹): 3420(OH), 1720(ester). ¹³C-NMR(50 MHz, d₅-pyridine) δ c: 177.2(C-28), 139.6(C-13), 128.7(C-12), 79.2(C-3), 72.9(C-19), 69.1(C-2), 67.1(C-24), 96.0(C-1'), 74.2(C-2'), 79.1(C-3'), 71.6(C-4'), 78.7(C-5'), 62.6(C-6').

compound 5: colorless needles(MeOH-acetone), mp. 278~281°(decomp.), $[\alpha]_D^{25} +17.2^\circ$ (c=1.0, EtOH), IR(KBr, cm⁻¹): 3435(OH), 1722(ester). ¹³C-NMR(50 MHz, d₅-pyridine) δ c: 176.8(C-28), 141.0(C-13), 126.5(C-12), 167.9*, 79.4(C-3), 69.0(C-2), 66.9(C-24), 96.2(C-1'), 74.3(C-2'), 79.0(C-3'), 71.4(C-4'), 78.5(C-5'), 62.4(C-6'). (*This signal is assignable to C-18 or C-19, the counterpart signal is assumed to be overlapped with signals of pyridine).

결과 및 고찰

도토리의 메탄올 엑기스를 물에 현탁시키고 이를 1-butanol로 추출하여 얻은 1-butanol엑기스를 소량의 메탄올에 녹이고 메탄올 용액을 대량의 에테르에 추가하여 생성된 침전을 crude 사포닌으로 하여 이를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 행하여 얻은 주 사포닌 QC-A 사포닌(crude saponin의 11.7%)이라 칭하였다. QC-A 사포닌은 Liebermann-Burchard 반응

에 양성이고(적색), TLC상에서 단일 spot를 나타내나 ¹³C-NMR스펙트럼에서 혼합물임이 밝혀졌다(C-28에 기인하는 signal이 δ c 177.5와 δ c 177.2 에서 약 1:1의 강도로 나타남). QC-A saponin을 산가수분해하면 진성 aglycone인 화합물 **1**과 화합물 **2**의 19 α -OH가 탈리하여 생성된 diene화합물이 생성된다. diene 화합물의 구조는 methyl ester triacetate체로 한 다음 HPLC로 분리하고 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR data를 화합물 **1,2**의 methyl ester triacetate체의 그것과 비교하여 확인하였다. 한편 QC-A 사포닌을 효소가수분해하면 진성 aglycone인 화합물 **1**과 **2**의 혼합물이 생성한다. 이는 diazomethane으로 메틸화 한 다음 아세틸화 하여 HPLC에 의하여 분리 할 수 있었다. 여기서 분리된 화합물 중 1종은 산가수분해로부터 얻은 **1b**와 동일함을 확인하였다. 이상의 가수분해 지견으로부터 QC-A 사포닌이 가지는 2종의 aglycone중 1종은 산가수분해시 탈수에 의하여 diene 화합물로 변하고 1종은 진성 aglycone으로 얻어짐이 분명하여졌다. 화합물 **1**은 C₃₀H₄₈O₆(원소분석, mass)의 분자식을 가지고 있고, IR 스펙트럼에서 수산기(3400 cm⁻¹)와 카르복실기(1700 cm⁻¹)의 흡수대가 관측된다. 화합물 **1**의 methyl ester triacetate체인 **1b**는 C₃₇H₅₆O₉(M⁺)의 분자식을 가지고 ¹H-NMR 스펙트럼(200 MHz, CDCl₃)에서는 카보메톡실기에 기인하는 signal(δ 3.63, s)과 3개의 acetoxyl기에 기인하는 signal(δ 1.98, 2.02, 2.09, 3H each, all s)이 각각 관측되어 화합물 **1**이 가지는 5개의 산소는 1개의 카르복실기와 3개의 수산기에 의한 것이 분명하여졌다. 그러나 화합물 **1b**의 IR에서 수산기의 흡수대가 약하여 1개의 수산기의 존재는 불분명하다. 그러나 화합물 **1**과 **1b**의 mass 스펙트럼에서 olean-12-ene골격의 특징적인 retro-Diels-Alder fragmentation의 D/E 고리계에 기인하는 fragment ion peak(RDA D/E)가 m/z 264와 m/z 278에서 각각 관측되어 화합물 **1**이 가지는 1개의 카르복실기와 1개의 수산기는 D/E 고리계에 존재함이 분명하다. 또한 화합물 **1b**의 mass 스펙트럼에서 m/z 278에 관련된 peak로 260(278-H₂O), 201(278-H₂O-COOCH₃) peak가 강하게 관측되는 사실로부터 **1**은 한개의 카르복실기와 4개의 수산기를 가지며 그중 카르복실기와 1개의 수산기가 D/E고리계에 존재하고 이 수산기는 입체장애가 큰 위치에 존재함이 분명하여졌다. 최종적으로 이 화합

물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 상세하게 검토한 결과 ar-jungenin methyl ester triacetate²⁾와 유사하였으므로 표준품과 직접 TLC, IR, mass 및 $^1\text{H-NMR}$ 에 의하여 비교확인 하였다. 따라서 화합물 1의 구조를 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid로 결정 하였다.

한편 QC-A 사포닌의 효소분해로 얻은 화합물 2의 methyl ester triacetate체 2b는 $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{O}_9$ 의 분자식 (high mass)을 가지고 IR에서 수산기(3510 cm^{-1})와 ester($1730, 1238\text{ cm}^{-1}$)기의 흡수대가 관측된다. 그 mass 스펙트럼에서는 m/z 644에서 M^+ 가 관측되는 이외에 m/z 278과 260,201에서 RDA D/E 고리계에 기인하는 ion peak가 관측된다. 또한 19 α -OH를 가지는 triterpene의 특징적인 강한 peak³⁾가 m/z 179에서 관측되어 이 화합물이 Δ -12-amyrin type triterpene임을 시사한다. 화합물 2b의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서는 5개의 3급 메틸기(δ 0.69, 0.90, 1.01, 1.20, 1.25, 3H each, all s)이외에 1개의 2급 메틸기에 기인하는 signal(δ 0.94, 3H, d, $J=6\text{ Hz}$)이 관측되어 이 화합물이 ursene type triterpene임을 시사된다. 또한 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-12의 chemical shift(δ 128.0)가 oleanene계의 그것에 비하여 약 4.6 ppm 저자장 shift하고, C-13의 chemical shift(δ 139.8)가 약 5.0 ppm 고자장 shift하고 있는데 이는 $^{13}\text{C-NMR}$ 에서 olean-12-ene과 urs-12-ene의 구별에 이용되는 진단용 peak⁴⁾로 이 화합물이 urs-12-ene임을 말하여 준다. $^1\text{H-NMR}$ 에서 1개의 methyl signal(δ 1.25)이 저자장 shift하고 있는데 이는, 19 α -hydroxyurs-12-en-28-oic acid type triterpene인 rotundic acid,⁵⁾ 2 α , 3 α , 19 α , 23-tetrahydroxyursolic acid⁶⁾ 등에서의와 같이 이 메틸기가 수산기를 가진 탄소에 결합하고 있음을 시사하고 있다. 이상의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 지견과 mass 스펙트럼에서 RDA D/E계에 기인하는 ion peak에서 탈수된 이온 peak(260,201)가 강하게 관측되는 사실로부터 1개의 수산기는 입체장애가 큰(axial 위치), 또한 메틸기가 결합한 19 α 위치임이 분명하다(이 사실은 QC-A 사포닌의 산 가수분해로 생성된 diene화합물의 구조로부터도 더욱 지지된다, diene화합물의 구조에 관한 설명은 생략함). 카르복실기의 위치는 화합물 2b를 탈아세틸화 하여 얻은 화합물 2a의 CD curve가 Δ -12-triterpene-28-carboxylic acid의 그것과 유사한 사실^{7,8)}로부터 [λ_{max} 220 nm($\Delta\epsilon$ -3.8)]

C-17위치로 결정되었다. 나머지 3개의 수산기의 위치는 mass에서 A/B 고리계에 존재하고, 1개는 1급이고, 2개는 2급인 것을 $^{13}\text{C-NMR}$ (δ 75.6(d), 70.2(d), 66.0(t)에서 알 수 있다. 화합물 1b에서와 같이 화합물 2b의 $^1\text{H-NMR}$ 에서 $-\text{CH}_2\text{OAc}$ 수소의 chemical shift가 equatorial 범위⁹⁾에 있고 그 coupling pattern이 AB type의 quartet인 사실로부터 이기는 C-23 위치임이 분명하다. 나머지 2개의 수산기의 위치는 화합물 1b와 화합물 2b의 A 고리에 기인하는 signal이 대단히 유사한 사실로부터 2 α , 3 β 로 각각 결정하였다. 위의 사실을 종합하여 화합물 2의 구조는 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid로 결정하였다.

마지막으로 dotorioside I과 II의 구조는 다음과 같은 사실로부터 결정할 수 있었다. 위에서 지정한 것과 같이 이 두 화합물은 혼합물(QC-A)로 존재한다. QC-A 사포닌을 산 가수분해하여 aglycone으로 화합물 1과 화합물 2가 정량적으로 변환한 diene이, 당으로 D-glucose가 생성한다. QC-A 사포닌은 두 구성배당체로 분리가 불가능하였으므로 이를 4-DMAP를 촉매로 아세틸화 한 다음 HPLC로 분리하고 이를 탈 아세틸화하여 dotorioside II(4)와 dotorioside I(3)의 19 α -OH가 탈리한 화합물 5의 형태로 분리되었다. dotorioside II는 $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$ 의 분자식을 가지고 IR 스펙트럼에서 수산기(3420 cm^{-1})이외에 ester(1720 cm^{-1})의 흡수대가 관측된다. 이의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 anomeric 탄소가 δ 96.0에서 관측되어 당이 β 결합하고 있음을 알 수 있고, 나머지의 당의 탄소가 rubusoside¹⁰⁾의 그것과 잘 일치하였다. $^{13}\text{C-NMR}$ 의 chemical shift 이외에도 당이 $-\text{COOH}$ 에 에스테르 결합한 사실은 QC-A 사포닌이 알칼리 조건에서 쉽게 가수분해하는 사실로부터도 알 수 있었다. 이상의 사실을 종합하여 dotorioside II의 구조는 28-O- β -D-glucopyranosyl 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid(4)로 결정하였다. dotorioside I은 순수하게 분리할 수 없었으나 다음의 사실로부터 그 구조를 결정할 수 있었다. dotorioside I도 II와 마찬가지로 D-글루코스가 에스테르 결합한 배당체이다. 이 사실은 QC-A를 알칼리 가수분해에 의하여 공통의 당인 D-glucose를 생성하고 화합물 5의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 C-28이 δ 176.8, anomeric 탄소가 δ 96.2에서 관측되는 사실로부터 D-글루코스가 28위치에 결합하고 있음을 알 수 있다. 또한 dotorioside I이

4-DMAP축매로 아세틸할 때 19 α -OH가 탈수하여 diene화합물을 생성하는 사실은 arjunglycoside²⁾의 경우에서와 같고, 화합물 5의 ¹³C-NMR data가 arjunglycoside를 동일한 조건에서 처리하여 얻은 화합물의 그것과 잘 일치하였으므로 dotorioside I의 구조를 3과 같이 결정 할 수 있었다.

여기에서 분리한 dotorioside I은 *Terminalia arjuna*로 부터 분리한 arjunglycoside²⁾와 *Quercus ilex* L.에서 분리된 sericosid¹⁾와 동일한 화합물이다. dotorioside II는 G. Romussi 등이 *Anchusa officinalis* L.로 부터 분리한 quersilicosid-A¹¹⁾와 aglycone의 구조는 같으나 D-글루코스의 결합양식이 다른 새로운 화합물이다.

감사의 말씀

이 연구를 완성하는 데까지 많은 편의를 제공하여 주신 일본 大阪大學 약학부의 北川 勳 교수에게 감사드린다. 본연구의 연구비는 신의약품개발 연구센터(RCNDD)의 연구비의 일부로 충당하였으며 관계 당국에 감사드린다.

문 헌

- 1) Romuss, G, Parodi, B. and Falson, G.: Nebentriterpenoid aus *Quercus ilex* L., *Pharmazie*, **38**, H.11 (1983).
- 2) Honda, T., Murae, T., Tsuyuki, T., Takahashi, T. and Sawai, M.: The Structure of Arjungenin. A New Sapogenin from *Terminalia arjuna*, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 178 (1976).
- 3) Brieskorn, C. H. and Suss, H. P.: Die Triterpenoide

der Birnen-und Apfeschale, *Arch. Pharm.*, **307**, 949 (1974).

- 4) Doddrell, D. M., Khong, P. W. and Lewis, K. G: The stereochemical dependence of ¹³C chemical shift in Olean-12-enes and Urs-12-enes as an aid to structural assignment, *Tetrahedron Letters*, **27**, 2381 (1974).
- 5) Takani, M., Kubota, K., Nozawa, M., Ushiki, T. and Takahashi, K.: Studies on Constituents of Medicinal Plants. XVIII. Constituents of the Leaves of *Clethra barbinervis* Sieb. et Zucc.(1), *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 81 (1977).
- 6) Brieskorn, C. H. and Riedel, W., Die Triterpen-sauren aus *Coleus amboinicus* Loureiro. *Arch. Pharm.*, **310**, 910 (1977).
- 7) Renwick, J. D., Scopes, P. M. and Hunneck, S.: Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism. Part LXIII. Unsaturated Triterpene 28-Carboxylic Acids and Related Compounds. *J. Chem. Soc. C*, **1969**, 2544.
- 8) Bombardelli, E., Bonati, A., Gabetta, B. and Mustichi, G.: Triterpenoides of *Terminalia Sericea*, *Phytochem.*, **13**, 2559 (1974).
- 9) Parkhurst, R. M., Thomas, D. W., Cary, L. W. and Reist, E. J.: A New Triterpene Lactone from *Gymnocladus dioica*. *Phytochem*, **19**, 273 (1980).
- 10) Tanaka, T., Kohda, H., Tanaka, O., Chen, F. H., Chou, W. H. and Leu, J. L.: Rubinoside, (β -D-Glucosyl Ester of 13-O- β -D-Glucosyl-Steviol), a Sweet Principle of *Rubus chingii* Hu (Rosaceae), *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2165(1981).
- 11) Romussi, G. and Falsone, G.: Quercilicosid-A aus *Anchusa officinalis* L., *Pharmazie*, **38**, 11 (1983).