

와송의 Triterpene 및 Steroid 성분

박희준 · 임상철 · 이명선 · 양한석*
상지대학교 자원식물학과 · *부산대학교 약학과

Triterpene and Steroids from *Orostachys japonicus*

Hee Juhn Park, Sang Cheol Lim, Myung Sun Lee and Han Suk Young*
Department of Botanical Resources, Sangji University, Wonju 220-702
and* Department of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract—From the whole plants of *Orostachys japonicus* (Crassulaceae), taraxerone, stigmast-4-ene-3-one and ergost-4-ene-3-one were isolated and characterized by spectral data.

Keywords—*Orostachys japonicus* · Crassulaceae · taraxerone · stigmast-4-ene-3-one · ergost-4-ene-3-one · ¹³C-NMR

와송은 일명 岩松, 屋松, 昨葉何草 등으로 불리는 돌나물과(Crassulaceae)의 다년생 초본 식물로서 한방에서 解熱, 消腫, 止血, 利濕에 사용되며 우리나라에서 민간요법으로 암치료에도 많이 사용하고 있다.¹⁻³⁾

저자 등은 국내 자생의 와송에 대한 성분 연구에서 9종의 flavonoid 성분과 fatty acid ester, seco-A-triterpene, 3-oxo-triterpene, 3-hydroxy-triterpene, primary long chain alcohol, sterol mixture, steryl glycoside mixture 성분 등 총 31종의 화학성분을 밝혔다.^{4,5)} 또한 생리활성 연구에서 항돌연변이 활성물질을 검색하기 위한 수십종의 생약에 대한 그 성분들의 항돌연변이 활성을 검토한 바 있다.⁶⁾

저자 등의 실험에 의하면 와송은 *n*-hexane 및 CHCl₃ 용매에 가용성인 대단히 많은 지용성 물질을 함유하고 있었고 미분리 물질에 대한 계속적인 성분 연구에서 glutinone의 이성체인 taraxerone이 mixture로 존재함을 분광 data의 면밀한 분석으로 밝혔으며, stigmast-4-ene-3-one 및 ergost-4-ene-3-one의 성분을 밝혔다. 또한 이들 물질의 ¹³C-NMR data를 assignment 할 수

있었으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

실 험

재료—1989년 5월 중에 경남 양산에서 채취한 비위솔(*O. japonicus* A. Berger)를 채집하여 등정하고 비교검토한 시판품을 부산 평화시장에서 구입하여 그늘에서 충분히 말린후 실험재료로 사용하였다.

기기—용점은 electrothermal digital melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다. IR spectrum은 Bomem MB-100 FT-IR spectrometer를 사용하여 KBr disk 법으로 측정하였다. NMR spectrum은 TMS를 내부 표준 물질로 하여 Bruker-AM 300을 사용하였고 질량 spectrum은 Hewlett Packard 5985B GC/MS system을 사용하였다.

추출 및 분리—전보⁵⁾에 따라 실시하였으며 *n*-hexane 분획물을 silica gel column chromatography에서 *n*-hexane-EtOAc 전개용매로 gradient elution하여 fr. 1~fr. 8을 얻었다.

Subfr. 2의 정제—Fr. 3을 다시 silica gel

column chromatography에서 *n*-hexane-EtOAc (10:1)로 용출하면 subfr. 1~3까지 얻어진다.

Subfr. 1을 정제하여 얻은 물질은 저자들이 분리한 glutinone과 동일한 물질이었으며 subfr. 3으로 부터는 저자가 분리한 friedelin과 동일한 화합물이 얻어졌다. Subfr. 2로 부터 분리한 화합물(triterpene mixture, TM-1)은 IR에서 2920 cm^{-1} (C-H) 및 1705 cm^{-1} 에서 흡수 band를 나타내었으며 $^1\text{H-NMR}$ 및 $^{13}\text{C-NMR}$ data는 Table I, II에 나타내었다.

Triterpene mixture(TM-1)의 LiAlH_4 환원—TM-1 100 mg을 무수 tetrahydrofuran에 녹이고 LiAlH_4 100 mg을 가한 뒤 환류냉각하면서 1시간 동안 가열 교반하였다. 반응액을 식히고 ether 150 ml 및 증류수 소량을 첨가한 뒤 여과하고 농축하였다. 이를 silica gel column chromatography에 수회 정제하고 *n*-hexane-EtOAc(10:1) 혼합액에서 재결정하여 TM-1a를 얻었다. 이의 $^1\text{H-NMR}$ data와 $^{13}\text{C-NMR}$ data를 각각 Table I과 Table II에 subfr. 2와 비교하여 나타내었다.

Subfr. 4의 정제—Fr. 6을 silica gel column chromatography에서(*n*-hexane-EtOAc=3:1) 전개용매로서 정제하고 CHCl_3 -MeOH 혼합액 중에

Table I. Chemical shifts of methyl and vinyl protons obtained from $^1\text{H-NMR}$ spectrum of triterpene mixture (TM-1) isolated from *O. japonicus* and its reductant (TM-1a)

Proton	Triterpene mixture (TM-1)		TM-1a	
	Glutinone	Taraxerone	Glutinol	Taraxerol
Angular methyl	0.82	0.83	0.84	0.80
	0.92	0.912	0.94	0.82
	1.03 (2 \times CH ₃)	0.917	0.99	0.91
	1.17	0.99	1.00	0.93
	1.22	1.02	1.05	0.95
	1.24	1.06	1.09	0.98
	1.26	1.08	1.14	0.99
	—	1.14	1.17	1.09
Vinyl proton	5.68 (m)	5.56 (dd)	5.64 (m)	5.54 (dd)

Table II. $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) data of 3-oxo- and 3-hydroxy-triterpene isolated from *O. japonicus*

Carbon No.	TM-1		TM-1a	
	Glutinone	Taraxerone	Glutinol	Taraxerol
1	21.6	38.4	39.1	38.1
2	38.1	34.1	28.0	27.2
3	215.4	217.2	76.4	79.1
4	50.0	47.6	39.4	38.9
5	142.4	55.7	141.7	55.6
6	121.3	20.0	122.1	18.8
7	23.6	35.1	33.3	35.0
8	47.0	38.9	49.9	38.9
9	35.1	48.7	38.0	48.8
10	50.7	37.7	47.6	37.8
11	34.1	17.4	35.2	17.5
12	30.3	35.8 ^a	23.8	35.8 ^a
13	39.3	37.7	31.8	37.8
14	37.9	157.6	34.9	158.3
15	31.9	117.2	32.4	116.9
16	35.9	36.7 ^a	30.5	36.7 ^a
17	30.1	37.7	30.2	37.9
18	43.2	48.8	43.2	49.3
19	35.1	40.7	36.1	41.3
20	28.2	28.8	29.8	28.8
21	33.1	33.6	29.0	33.7
22	38.9	33.1	34.5	33.1
23	24.4 ^a	26.1	34.7	28.2
24	28.5 ^a	21.5	18.3	15.4
25	15.6	14.8	19.7	15.4
26	19.3	29.9	16.3	29.9
27	18.4	25.6	18.3	25.9
28	32.0	29.9	28.3	29.8
29	34.5	33.4	25.5	33.3
30	32.4	21.3	32.2	21.3

^a) May be reversed although those given here are preferred.

서 재결정하여 무색의 분말성 물질인 steroid mixture(SM-1)를 얻었다.

SM-1: UV, λ_{max} (EtOH) 245, 240 nm(sh); IR, ν_{max} (KBr) 1660 cm^{-1} (conjugated C=O) 1620 cm^{-1} (C=C); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.91(3H, s, 18-CH₃), 1.00(3H, s, 19-CH₃),

Table III. ^{13}C -NMR data of steroid mixture(SM-1) and related compounds

Carbon No.	SM-1	β -Sitosterol	12 β -Hydroxy-pregna-4,16-dien-3,20-dione ¹³⁾
1	35.7	37.3	35.3
2	34.0	31.6	33.8
3	199.5	71.8	198.9
4	124.5	42.3	124.1
5	171.6	140.8	169.9
6	32.4	121.7	32.5
7	31.9	31.9	31.0
8	32.5	31.6	32.5
9	53.9	50.1	52.4
10	38.6	38.5	36.5
11	21.1	21.1	28.8
12	38.9	38.8	73.2
13	42.4	42.3	51.8
14	53.9	56.8	53.1
15	24.2	24.3	32.0
16	28.2	28.3	149.4
17	55.9	56.0	155.0
18	12.0	11.9	11.6
19	19.8	19.4	17.0
20	36.1	36.2	199.3
21	18.7	18.2	26.6
22	23.0	33.9	—
23	26.2	26.0	—
24	45.9	45.8	—
25	29.2	29.1	—
26	19.0	19.0	—
27	19.8	19.8	—
28	23.1	23.1	—
29	12.0	12.0	—

0.81, 0.83, 0.85 and 1.25 (each 3H), 5.72 (1H, s, vinyl proton); ^{13}C -NMR(75.5 MHz, CDCl_3) δ : Table III 참조; MS(70 eV), m/z : 412(M^+ of stigmast-4-ene-3-one), 398(M^+ of ergost-4-ene-3-one).

실험결과 및 고찰

저자들은 이미 와송에서 31종의 화합물을 동정하였으나 n -hexane 분획에서 fr. 3~ fr. 6에

서 미확인 성분을 분석중 fr. 3에서 다시 SiO_2 column chromatography로 subfr. 1, subfr. 2 및 subfr. 3으로 분리하였을 때 subfr. 2에서 얻은 물질(TM-1)은 subfr. 1(glutinone) 및 subfr. 3(friedelin)에서 얻은 물질과는 다른 성분이 함유되어 있음을 ^1H -NMR spectrum(Table I)과 ^{13}C -NMR spectrum(Table II)을 측정하여 알 수 있었다.

^1H -NMR spectrum에서는 glutinone에 의한 methyl peak와 vinyl proton(δ 5.68)이 존재하였으며 또 다른 triterpene에 의한 methyl peak와 vinyl proton peak(δ 5.56)가 나타났다(Table I). 또 이 화합물은 CH_3 peak가 8개 관측되므로 pentacyclic triterpene임을 알 수 있었다. Glutinone의 ^{13}C -NMR에서는 glutinol의 문헌치⁷⁾ 및 glutinone의 benzene- d_6 용매 중에서 측정된 문헌치를 비교하여 assignment 할 수 있었으며 나머지 피크는 이 화합물이 taraxerone으로 추측되므로 직접 taraxerol의 ^{13}C -NMR data와 비교 분석한 결과⁸⁾ 이중결합에 의한 탄소의 피크가 일치하였으므로 C-14에 이중결합이 존재하는 pentacyclic triterpene으로 추측되고 ketone에 의한 피크(δ 217.2 ppm)가 나타났으므로 C-3에 ketone이 존재하는 것으로 추측하였다. IR spectrum에서도 수산기는 나타나지 않았으므로 이를 뒷받침할 수 있었다. 이 화합물의 LiAlH_4 환원체는 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR 등의 분석치가 taraxerol의 문헌치와 동일하였으며⁸⁾ mass spectrum에서는 분자이온 m/z 426, RDA fragmentation으로 나타나는 m/z 302 및 C-ring의 개환에 의한 base peak의 m/z 204 등으로 부터 이 화합물은 taraxerol임이 확실하다.⁹⁾ 따라서 subfr. 2에서 얻은 TM-1에는 3-oxo-triterpene인 glutinone과 taraxerone이 존재함을 알 수 있었다. 이 화합물은 Gunasekera 등이 *Caraiipa densiflora*에서 분리한 바 있으며¹⁰⁾ Sakurai 등¹¹⁾이 *Myrica rubra*로 부터 분리한 taraxerone의 ^{13}C -NMR spectral data를 assignment한 바 있다. Akihisa 등¹²⁾은 *Linguania chungii*에서 얻은 3-oxo-triterpene mixture를 HPLC로서 분리한 glutinone의 ^{13}C -NMR data를 assignment한 바 있다. 이들 문헌치와 비교하여 TM-1의 ^{13}C -NMR spectral

data를 assignment할 수 있었는데 그 결과를 Table II에 나타내었다.

Subfr. 4로 부터 얻은 steroid mixture(SM-1)은 IR에서 1660 cm^{-1} 에서 conjugated C=O에 의한 peak와 C=C에 의한 peak가 관찰되었고 수산기의 피크는 나타나지 않았으며, UV spectrum에서 245 nm에서 흡수극대치를 가지므로 conjugated double bond가 존재하는 것으로 추정하였다. 또 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서는 $\delta 0.91$ 및 $\delta 1.00$ 에서 steroid에 기인한 angular methyl signal이 나타나며 β -sitosterol에서 나타나는 주요 methyl signal이 관측되었으며 $\delta 5.72$ 에서는 singlet peak가 나타나 ketone과 공액하는 vinyl proton으로 추정되었다.

$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 측정하였을 때 steroid의 특징적인 angular methyl signal이 12.0 ppm (C-18)과 19.8 ppm (C-19)에서 나타나며 C-3의 ketone이 199.5 ppm에서, C-4의 이중결합 탄소는 171.6 ppm에서 각각 나타났다. Table III에 나타내었듯이 SM-1의 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum의 탄소 peak를 A-ring의 구조와 유사한 steroid인 12 β -hydroxy-pregna-4, 16-diene-3, 20-dione 과 비교하였고¹³⁾ 나머지 피크를 β -sitosterol의 data와 비교하여 stigmast-4-ene-3-one의 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 assignment하였다. Mass spectrum에서는 stigmast-4-ene-3-one의 분자이온 피크인 m/z 412 및 ergost-4-ene-3-one의 분자이온 피크인 m/z 398을 확인하였으므로 이들 화합물의 존재를 알 수 있었다.

결 론

와송에 대한 화학성분 연구에서 3-oxo-triterpene으로서 taraxerone과 3-oxo-steroid인 stigmast-4-ene-3-one과 ergost-4-ene-3-one의 화합물을 밝혔다.

감사의 말씀—본 연구를 위하여 시종 조언을 아끼지 않으신 부산수산대학교의 최재수 교수님과 논문 작성을 위하여 자료를 제공하여 주신 서울대학교 천연물과학연구소의 강삼식 교수님께 심심한 사의를 포함합니다.

<1993년 12월 27일 접수 : 1994년 1월 18일 수리>

문 헌

1. 金在估 : 原色天然藥物大事典(上卷), 南山堂, 서울, p. 447 (1984).
2. 赤松金芳 : 新丁和漢藥, 醫齒藥出版社, 동경, p. 393 (1985).
3. 上海科學技術出版社 小學館編 : 中藥大事典, 小學館, p. 526 (1985).
4. Park, H.J., Young, H.S., Park, K.Y., Rhee, S.H., Chung, H.Y. and Choi, J.S.: *Arch. Pharm. Res.* 14, 167 (1991).
5. Park, H.J., Young, H.S., Kim, J.O., Rhee, S.H. and Choi, J.S.: *Kor. J. Pharmacogn.* 22, 78 (1991).
6. Park, H.J., Moon, S.H., Park, K.Y., Choi, J.S., Chung, H.Y., Young, H.S. and Suh, S.S.: *Yakhhak Hoeji* 35, 253 (1991).
7. Mahato, S.B., Das, M.C. and Shau, N.P.: *Phytochem.* 20, 171 (1981).
8. Reynolds, W.F., McLean, S. and Poplawski, J.: *Tetrahedron Lett.* 42, 3419 (1986).
9. Ogunkoya, L.: *Phytochem.* 20, 121 (1981).
10. Gunasekera, S.P., Cordell, G.A. and Farnsworth, N.R.: *J. Nat. Prod.* 46, 118 (1983).
11. Sakurai, N., Yaguchi, Y. and Inoue, T.: *Phytochem.* 26, 217 (1987).
12. Akihisa, T., Yamamoto, K., Tamura, T., Kimura, Y., Iida, T., Nambara, T. and Chang, F.C.: *Chem. Pharm. Bull.* 40, 789 (1992).
13. Yeh, S. and Cordell, G.A.: *J. Nat. Prod.* 50, 195 (1987).