

## 좁은잎산사나무 열매의 화학성분

박시우 · 육창수 · 이형규\*

경희대학교 약학대학 · \*한국과학기술연구원 유전공학연구소

### Chemical Components from the Fruits of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa*

Si-Woo Park, Chang-Soo Yook and Hyeong-Kyu Lee\*

College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701 and

\*Genetic Engineering Research Institute, KIST, Taejon 305-600, Korea

**Abstract**—The ether soluble fraction of the methanol extract from the fruits of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* was applied to silica gel column chromatography, eluted step-gradiently with a mixture of dichloromethane and methanol, repeatedly, and five compounds were isolated. These compounds are identified as ursolic acid(I), corosolic acid(II) and euscaptic acid(III),  $\beta$ -sitosteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(IV) and hyperin(V).

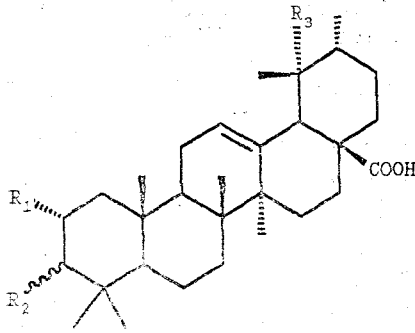
**Keywords**—*Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* · ursolic acid · corosolic acid · euscaptic acid ·  $\beta$ -sitosteryl glucopyranoside · hyperin

좁은잎산사나무<sup>1-3)</sup> *Crataegus pinnatifida* Bunge var. *psilosa* Schneider는 장미과에 속하는 낙엽활엽의 작은 소고목으로 잎은 난형 또는 도란형이며 우상으로 길게 갈라져 있다. 꽃은 방상화서(房狀花序)로서 정생(頂生)하며 백색으로 5~6월에 피고, 열매는 이과(梨果)로서 구형 또는 난형이며 9~10월에 붉게 익는다. 산사나무 *Crataegus pinnatifida*에 비하여 잎은 뚜렷하게 잘게 갈라져 있다. 우리나라에 분포하고 있는 *Crataegus*속 식물로는 좁은잎산사나무를 비롯하여 7종류가 야생하고 있으며, 산사나무와 동속 근연식물의 열매를 한약에서 山査子(*Crataegi Fructus*)<sup>3)</sup>라고 하여 소화건위제 등으로 사용되고 있다. 한편, 중국에서는<sup>4)</sup> *C. pinnatifida* var. *major*, *C. cuneata*, *C. hupehensis*, *C. sanguinea*, *C. scabrifolia* 등의 열매를 약용으로 하고 유럽

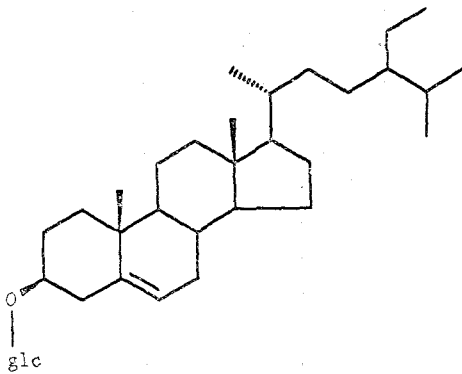
과 러시아에서는 *C. oxyacantha*, *C. pentagyna*, *C. meyeri*, *C. orientalis*, *C. mongyna* 등의 잎, 꽃, 열매를 사용하고 있다. 본초강목에 기재된 산사의 약성과 약능<sup>4-7)</sup>을 보면, 성(性)은 미온(微溫無毒), 맛은 감산(甘酸)하며, 귀경(歸經)은 비(脾), 위(胃), 간경(肝經)이며, 특히 산사육(山査肉)은 소식적(消食積) 요산견위(療疝健胃) 치육적(治肉積), 산어혈(疝瘀血), 구조충(驅條蟲)하며 정가(癥瘕), 담음(痰飲), 비만(痞滿), 탄산(呑酸), 사리(瀉痢), 장풍(腸風), 산후아침통(產後兒枕痛), 오로부진(惡露不盡), 소아유식정체(小兒乳食停滯), 월경통(月經痛), 요통(腰痛) 등의 치료에 사용된다고 하였다.

*Crataegus*속의 성분연구로는 Nikolov<sup>8,9)</sup>가 *C. monogyna*, *C. pentagyna*의 꽃에서 spiraeoside(queretin-4'-O-glucoside), rutin, 8-methoxykaempferol-3-O-glucopyranoside, 2''-O-rhamosylvitexin, 2''-O-rhamnosylisovitexin, 2''-O-rha-

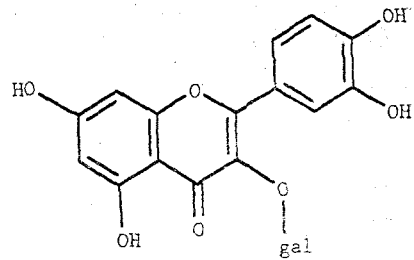
Address for correspondence: Hyeong-Kyu Lee, Genetic Engineering Research Institute, Yoosung P.O. Box 115, Taejon 305-600, Korea



- I; R1= R3= H, R2= $\beta$ OH (ursolic acid)
- II; R1= OH, R2= $\beta$ OH, R3= H (corosolic acid)
- III; R1= OH, R2= $\alpha$ OH, R3= OH (euscaptic acid)



IV;  $\beta$ -sitosterylglucoside



v; hyperin

mnosylorientin, 2''-O-rhamnosyl isoorientin, isoschaftoside, vincenin 1, 2, 3, schaftoside 등을, Xie<sup>10)</sup> 등은 *C. pinnatifida* 열매에서 epicatechin, quercetin, hyperoside, chlorogenic acid 등을, Ding<sup>11)</sup> 은 *C. pinnatifida* var. *major*의 열매에서 quercetin, hyperin, vitexin, rhamnosylvitexin, sorbitol 등을 분리하였고, 오<sup>12)</sup> 는 *C. pinnatifida* var. *psilosa*의 열매에서 ursolic acid, epicatechin, hyperoside, vitexin 등을, Sun<sup>13)</sup> 은 *C. pinnatifida*의 열매에서 ursolic acid, citronellol, stigmaterol, oleanolic acid를, Theoder<sup>14)</sup> 과 Jia<sup>15)</sup> 는 *C. oxyacantha*와 *C. pinnatifida* var. *major*에서 ursolic acid를 각각 분리하였다.

저자는 국산 생약자원의 개발과 자원의 활용을 위하여 산사나무와 동속식물인 좁은잎산사나무에 대한 약효성분을 규명하고자 그 열매를 MeOH로 추출한 후, 그 ether가용부를 silica gel column chromatography를 실시하였고, 그 중 몇개의 분획으로부터 compound I~V를 각각 분리하였다.

### 실험방법 및 결과

재료—재료식물인 좁은잎산사나무의 열매는 강원도 광덕산에서 1992년 9월부터 10월까지 채집하여 정확히 감정하고, 열매에서 씨를 제거한 후, 건조 세절하여 과육만 사용하였다.

시약 및 기기—성분분리용 column 충전제로는 silica gel 60(230~400mesh, Merck)을, 성분의 검출 및 분리조건 설정에는 precoated silica gel GF<sub>254</sub> plate (layer thickness: 0.25 mm, Merck, Germany)를, 그리고 용매는 일급시약을 사용하였다. 용적측정은 Electrothermal Az 9003 60W MK2(Electrothermal Co., England)를, IR spectrum은 Analect RFX-65 (Laser Procecion Analytical, U.S.A.)을, UV spectrum은 Spectronic 3000 Array(Milton Roy, U.S.A.)를, 질량분석은 Kratos Concept-IS(Kratos Analytical, England)를, 그리고 NMR spectrum은 Varian Unity-300 (300MHz, Varian, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

추출 및 분리—재료 7.0 kg을 MeOH 20 l로 수욕상에서 3회 반복 추출하고 추출액을 합하여 감압농축하여 만든 MeOH연조엑스 2.0 kg에 증류수 0.5 l를 가하여 잘 희석시킨 후 ether(2 l×5 회)을 가하고 진탕 추출한 후, 분취한 ether용액을 감압농축하여 건조엑스 약 100 g을 얻었으며, 그 중 약 60 g을 flash column chromatography (silica gel, solvent: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH=60:1→1:1, step-gradient)를 실시하였고, TLC 결과에 따라서 13개 분획으로 나누고, 그중 몇개의 분획으로부터 각각의 성분을 분리하였다.

**Compound I**—13개의 분획중 fr. 4와 fr. 5를 합하여 다시 silica gel column chromatography (solvent, CHCl<sub>3</sub>-MeOH=40:1)를 실시하여 compound I을 단리하였고, MeOH로 3회 재결정하여 무색 분말상 결정을 약 1000 mg 얻었다.

Liebermann-Burchard 반응(양성), mp 287~288°; Anal. Calcd for C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>: C, 78.60; H, 10.60; Found: C, 78.89; H, 10.59; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup>+67.5°(c=1, N alc KOH); IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3428(OH), 2925(CH), 1697(COOH), 1454, 1376; EIMS(70eV) *m/z* 456(M<sup>+</sup>), 248, 207, 203, 189, 175, 133; <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>)  $\delta$ : 0.69(3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.76(3H, d, CH<sub>3</sub>), 0.79(3H, d, CH<sub>3</sub>), 0.83(3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.86(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.03(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.05(3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.44(1H, d, *J*=11.1Hz, H-18), 3.26(1H, t-like, *J*=8.1Hz, H-3), 4.85(1H, br, OH), 5.30(1H, brs, H-12); <sup>13</sup>C-NMR(75MHz, pyridine-d<sub>5</sub>)  $\delta$ : Table I 참조.

**Compound II**—Fr. 8에 대해서 혼합용매(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-ether)를 3:1로부터 3:5까지 극성을 높여 가면서 gradient column chromatography를 실시하여 fr. 8-5와 fr. 8-7을 얻었다. 그중 fr. 8-7을 농축하면서 얻은 조결정물을 MeOH로 재결정하여 compound II를 얻었다.

Liebermann-Burchard 반응(양성), mp 242~244° (decomp.); Anal. Calcd for C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>: C, 76.22; H, 10.24; Found: C, 76.20; H, 10.21; IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3430(OH), 2927(CH), 1695(C=O), 1457, 1378, 1049; EIMS(70eV) *m/z* 472(M<sup>+</sup>), 248(base peak), 223, 203, 133; <sup>1</sup>H-NMR

**Table I.** <sup>13</sup>C-NMR spectral data of compounds I, II and III(75MHz, pyridine-d<sub>5</sub>,  $\delta$ )

Carbon No.	Compound I	Compound II	Compound III
1	30.09(CH <sub>2</sub> )*	48.40(CH <sub>2</sub> )	43.32(CH <sub>2</sub> )
2	28.70(CH <sub>2</sub> )	69.05(CH)	66.58(CH)
3	78.11(CH)	84.22(CH)	79.80(CH)
4	39.98(C)	40.29(C)	39.28(C)
5	53.55(CH)	56.35(CH)	49.21(CH)
6	18.79(CH <sub>2</sub> )	19.29(CH <sub>2</sub> )	19.08(CH <sub>2</sub> )
7	33.58(CH <sub>2</sub> )	33.95(CH <sub>2</sub> )	33.98(CH <sub>2</sub> )
8	39.38(CH)	40.47(CH)	41.04(CH)
9	48.05(CH)	48.53(CH)	48.10(CH)
10	39.38(C)	38.87(C)	39.13(C)
11	23.63(CH <sub>2</sub> )	24.18(CH <sub>2</sub> )	24.55(CH <sub>2</sub> )
12	125.64(CH)	125.99(CH)	128.44(CH)
13	139.26(C)	139.72(C)	140.43(C)
14	42.50(C)	42.98(C)	42.64(C)
15	31.07(CH <sub>2</sub> )	29.08(CH <sub>2</sub> )	29.71(CH <sub>2</sub> )
16	24.92(CH <sub>2</sub> )	25.34(CH <sub>2</sub> )	26.85(CH <sub>2</sub> )
17	48.05(C)	48.47(C)	48.74(C)
18	55.82(CH)	53.95(CH)	55.05(CH)
19	39.49(CH) <sup>a</sup>	39.94(CH) <sup>a</sup>	73.15(C)
20	39.38(CH) <sup>a</sup>	39.86(CH) <sup>a</sup>	42.84(CH)
21	28.23(CH <sub>2</sub> )	31.54(CH <sub>2</sub> )	27.42(CH <sub>2</sub> )
22	37.54(CH <sub>2</sub> )	37.88(CH <sub>2</sub> )	38.97(CH <sub>2</sub> )
23	28.92(CH <sub>3</sub> )	29.82(CH <sub>3</sub> )	29.94(CH <sub>3</sub> )
24	17.58(CH <sub>3</sub> )	17.43(CH <sub>3</sub> ) <sup>b</sup>	22.75(CH <sub>3</sub> )
25	17.58(CH <sub>3</sub> )	17.91(CH <sub>3</sub> ) <sup>b</sup>	17.26(CH <sub>3</sub> )
26	15.68(CH <sub>3</sub> )	17.99(CH <sub>3</sub> )	17.73(CH <sub>3</sub> )
27	23.92(CH <sub>3</sub> )	24.37(CH <sub>3</sub> )	25.10(CH <sub>3</sub> )
28	179.88(C)	180.35(C)	181.20(C)
29	21.41(CH <sub>3</sub> )	18.17(CH <sub>3</sub> )	27.54(CH <sub>3</sub> )
30	16.58(CH <sub>3</sub> )	21.89(CH <sub>3</sub> )	17.00(CH <sub>3</sub> )

\*Each carbon character was determined by DEPT spectra.

<sup>a, b</sup>Assignments may be exchanged each other in the same column.

(300 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>)  $\delta$ : 0.96(3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.96(3H, d, CH<sub>3</sub>), 1.00(3H, d, CH<sub>3</sub>), 1.05(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.19(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.25(6H, s, 2×CH<sub>3</sub>), 2.60(1H, d, *J*=11.1Hz, H-18), 3.38(1H, d, *J*=9.3Hz, H-3), 4.08(1H, m, H-2), 5.44(1H, brs, H-12); <sup>13</sup>C-NMR(75 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>)  $\delta$ : Table I 참조.

**Compound III**—Fr. 8-5를 농축하여 조결정을 얻고 ether 및 EtOAc로 각각 반복 재결정하여 compound III를 정제하였다.

Liebermann-Burchard 반응(양성), mp 285~288° (decomp.); Anal. Calcd for C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub>: C, 73.73; H, 9.90; Found: C, 73.69; H, 9.80; IR,  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3451(OH), 2933(CH), 1700(C=O), 1646(C=C); EIMS(70eV) *m/z* 488(M<sup>+</sup>), 442, 426, 264, 233, 187, 146; <sup>1</sup>H-NMR(300

MHz, pyridine-d<sub>5</sub>)  $\delta$ : 0.89(3H, s, CH<sub>3</sub>), 0.97(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.09(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.10(3H, d, CH<sub>3</sub>), 1.25(3H, s, CH<sub>3</sub>), 1.40(6H, s, 2×CH<sub>3</sub>), 1.62(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.02(1H, s, H-18), 3.75(1H, d-like, *J* = ca. 3.0Hz, H-3), 4.29(1H, m, H-2), 5.57(1H, brs, H-12); <sup>13</sup>C-NMR(75MHz, pyridine-d<sub>5</sub>)  $\delta$ : Table I 참조.

**Compound IV**—Fr. 11을 약 1/100 volume으로 농축하여 방치한 다음, 생긴 침전물을 감압

**Table II.** <sup>13</sup>C-NMR spectral data of compound IV and its acetate(75MHz,  $\delta$ )<sup>1)</sup>

Carbon No.	Aglycone part		Sugar part	
	Compound IV	Acetate of IV	Compound IV	Acetate of IV
1	37.98(CH <sub>2</sub> )*	37.19(CH <sub>2</sub> )	103.04(CH)	99.65(CH)
2	30.73(CH <sub>2</sub> )	29.46(CH <sub>2</sub> )	75.75(CH)	71.49(CH)
3	78.60(CH)	80.06(CH)	78.89(CH)	71.70(CH)
4	39.83(C)	38.92(C)	72.13(CH)	68.54(CH)
5	141.40(C)	140.34(C)	79.02(CH)	72.91(CH)
6	122.38(CH)	122.16(CH)	63.29(CH <sub>2</sub> )	62.10(CH <sub>2</sub> )
7	32.69(CH <sub>2</sub> )	31.95(CH <sub>2</sub> )		
8	32.56(CH)	31.87(CH)		
9	50.85(CH)	50.17(CH)		acetate part
10	37.41(C)	36.71(C)		
11	21.80(CH <sub>2</sub> )	21.06(CH <sub>2</sub> )		20.62(CH <sub>3</sub> ×2)
12	40.47(CH <sub>2</sub> )	39.73(CH <sub>2</sub> )		20.72(CH <sub>3</sub> )
13	42.98(C)	42.32(C)		20.77(CH <sub>3</sub> )
14	57.35(CH)	56.76(CH)		169.27(C=O)
15	25.03(CH <sub>2</sub> )	24.29(CH <sub>2</sub> )		169.28(C=O)
16	29.05(CH <sub>2</sub> )	28.24(CH <sub>2</sub> )		170.33(C=O)
17	56.75(CH <sub>2</sub> )	56.05(CH <sub>2</sub> )		170.65(C=O)
18	12.49(CH <sub>3</sub> )	11.86(CH <sub>3</sub> )		
19	19.93(CH <sub>3</sub> )	19.36(CH <sub>3</sub> )		
20	36.90(CH)	36.12(CH)		
21	19.53(CH <sub>3</sub> )	18.79(CH <sub>3</sub> )		
22	34.71(CH <sub>2</sub> )	33.94(CH <sub>2</sub> )		
23	26.89(CH <sub>2</sub> )	26.06(CH <sub>2</sub> )		
24	46.54(CH)	45.83(CH)		
25	29.97(CH)	29.15(CH)		
26	19.74(CH <sub>3</sub> )	19.05(CH <sub>3</sub> )		
27	20.50(CH <sub>3</sub> )	19.83(CH <sub>3</sub> )		
28	23.90(CH <sub>2</sub> )	23.06(CH <sub>2</sub> )		
29	12.68(CH <sub>3</sub> )	11.99(CH <sub>3</sub> )		

<sup>1)</sup>Compound IV was measured in pyridine-d<sub>5</sub> and its acetate in CDCl<sub>3</sub>.

\*Each carbon character was determined by DEPT spectra.

여과하고 남은 잔사를 뜨거운 MeOH에 녹이고 여기에 EtOAc를 소량 가하여 냉각시켜서 백색 분말상의 결정 50 mg을 얻었다.

Liebermann-Burchard 반응(양성), Molisch 반응(양성); mp 280~282° (decomp.); Anal. Calcd for  $C_{35}H_{60}O_6$ : C, 72.87; H, 10.48; Found: C, 72.74; H, 10.43; IR,  $\nu_{\max}^{KBr}$   $cm^{-1}$  3396(OH), 2958(CH), 1457, 1378, 1076, 1072; EIMS(70eV)  $m/z$  414, 396(base peak), 381, 275, 255, 139;  $^1H$ -NMR(300MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : 0.67(3H, s,  $CH_3$ ), 0.86(3H, d,  $J=6.0$ Hz,  $CH_3$ ), 0.87(3H, t,  $J=6.0$ Hz,  $CH_3$ ), 0.89(3H, d,  $J=6.9$ Hz,  $CH_3$ ), 0.93(3H, s,  $CH_3$ ), 0.99(3H, d,  $J=6.0$ Hz,  $CH_3$ );  $^{13}C$ -NMR(75MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : Table II 참조.

**Compound IV의 acetyl화**—Compound IV 30 mg을 따로 flask에 옮겨 acetic anhydride 2.0 ml와 pyridine 0.5 ml를 가해서 수욕상에서 가열 반응시킨 후 하루저녁 방치하였다. 여기에 증류수 10 ml를 넣고 생긴 결정을 감압여과한 후 MeOH로 재결정하여 무색침상의 acetate를 얻었다.

mp 166~167°, Anal. Calcd for  $C_{43}H_{68}O_{10}$ : C, 69.30; H, 9.20; Found: C, 69.29; H, 9.18;  $^1H$ -NMR(300MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 0.68(3H, s,  $CH_3$ ), 0.81(3H, d,  $J=6.0$ Hz,  $CH_3$ ), 0.84(3H, d,  $J=6.6$ Hz,  $CH_3$ ), 0.85(3H, t,  $J=7.2$ Hz,  $CH_3$ ), 0.92(3H, d,  $J=6.0$ Hz,  $CH_3$ ), 0.99(3H, s,  $CH_3$ ), 2.00(3H, s,  $CH_3CO$ ), 2.02(3H, s,  $CH_3CO$ ), 2.05(3H, s,  $CH_3CO$ ), 2.08(3H, s,  $CH_3CO$ ), 3.48(1H, m, H-3), 3.68(1H, m), 4.11(1H, dd,  $J=2.1, 12.3$ Hz), 4.26(1H, dd,  $J=4.8, 12.0$ Hz), 4.60(1H, d,  $J=7.8$ Hz), 4.96(1H, dd,  $J=9$ Hz), 5.07(1H, dd,  $J=9.6$ Hz), 5.21(1H, dd,  $J=9.6$ Hz), 5.36(1H, m, H-6);  $^{13}C$ -NMR(75MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : Table II 참조.

**Compound V**—Fr. 12를 약 1/100 volume으로 농축하여 방치한 다음, 생긴 침전물을 원심분리하고 뜨거운 MeOH로 수회 세척하여 정제된 compound V를 얻었다.

Shinoda test(양성), mp 218~220°, Anal. Calcd for  $C_{27}H_{20}O_{12}$ : C, 54.31; H, 4.34; Found:

C, 54.30; H, 4.30; IR,  $\nu_{\max}^{KBr}$   $cm^{-1}$  3370(OH), 1653(C=O), 1608(C=C), 1000~1200; UV,  $\lambda_{\max}^{MeOH}$  nm 257, 266, 360;  $\lambda_{\max}^{MeOH+NaOH}$  nm 272, 332, 412; EIMS(70eV)  $m/z$  302( $M^+$ -galactose) 301, 285, 273, 257, 249, 229;  $^1H$ -NMR(300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.63(1H, s, 5-OH), 10.87(1H, s, aromatic OH), 9.75(1H, s, aromatic OH), 9.18(1H, s, aromatic OH), 7.64(1H, dd,  $J=2.2, 8.5$ Hz, H-6'), 7.53(1H, d,  $J=2.2$ Hz, H-2'), 6.81(1H, d,  $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.41(1H, d,  $J=2.0$ Hz, H-8), 6.19(1H, d,  $J=2.0$ Hz, H-6), 5.38(1H, d,  $J=7.7$ Hz, anomeric H-1''), 5.15(1H, d,  $J=4.6$ Hz, OH), 4.88(1H, d,  $J=3.4$ Hz, OH), 4.46(2H, m, OH  $\times 2$ ), 3.66~3.15(m, sugar-H);  $^{13}C$ -NMR(300MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 156.36(C-2), 133.54(C-3), 177.56(C-4), 161.30(C-5), 98.74(C-6), 161.19(C-7), 93.58(C-8), 156.30(C-9), 104.00(C-10), 121.17(C-1'), 115.26(C-2'), 144.89(C-3'), 148.53(C-4'), 116.02(C-5'), 122.06(C-6'), 101.84(C-1''), 71.27(C-2''), 73.24(C-3''), 68.00(C-4''), 75.91(C-5''), 60.22(C-6'').

## 고 찰

Compound I은 Liebermann-Burchard 반응에서 양성(자색)이고, IR spectrum에서 3482(OH), 2925(CH), 1697(COOH)  $cm^{-1}$ 에서 흡수대를 나타내었고, mass spectrum에서  $m/z$  456에서 molecular ion peak를, 탄소 12와 13위치에 이중결합이 존재하는 triterpenoid의 전형적인 형태인 retro Diels-Alder fragmentation에 의한  $m/z$  248, 207 fragment ion를 관찰 할 수 있었다.  $^1H$ -NMR에서 0.69 ppm, 1.05 ppm 사이에서 7개의 methyl signal과, 5.30 ppm에서 olefinic proton이 관찰되었고, 3.26 ppm에서  $J=8.1$ Hz의 H-3 methine proton이 관찰되어 OH가  $\beta$ 결합되어 있다고 유추되었으며, 2.44 ppm에서  $J=11.1$ Hz로서 H-18이 doublet로 나타나고,  $^{13}C$ -NMR에서는 179.88 ppm에서 C-28의 carboxyl기와 C-12, C-13의 이중결합에 의한 chemical shift가 125.64 ppm, 139.26 ppm으로 나타나므로 urs-12-ene type의 trite-

rpenoic acid임을 뒷받침해 주었다.<sup>16)</sup> 이상의 결과를 종합하여 본 화합물은 분자식  $C_{30}H_{48}O_3$ 인 ursolic acid ( $3\beta$ -hydroxy urs-12-ene-28-oic acid)로 동정하였다.

Compound II는 compound I과 매우 유사한 점이 많았다. 다만, ursolic acid와는 다르게 산소가 결합된 CH가 2개 (69.05 및 84.22 ppm)가 나타나고 있으며 이는  $C_2$ 와  $C_3$ 에 hydroxyl기가 도입된 경우와 흡사하고, 더구나  $^1H$ -NMR에서  $C_3$ -H가 3.38 ppm에서 doublet ( $J=9.3$ Hz)로  $C_2$ -H가 4.08 ppm에서 multiplet로 나타나므로써  $2\alpha$ -OH 및  $3\beta$ -OH로 결합된 형태를 결정할 수 있었다. Mass spectrum에서 molecular ion peak ( $m/z$  472)는 잘 관찰되지 않았으나, retro Diels-Alder fragmentation에 의한  $m/z$  223과 248의 peak는  $\Delta^{12}$ -triterpenoid 중 A/B ring쪽에 2개의 hydroxyl기가 존재함을 보여주고 있으며,  $m/z$  248에서 COOH가 떨어져서 생긴  $m/z$  203과 이곳에서  $C_5H_{10}$ 이 탈락된  $m/z$  133 등 ursene type의 D/E ring에 대한 전형적인 pattern을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과들을 종합하여 compound II는 corosolic acid ( $2\alpha$ -hydroxy ursolic acid)로 동정하였다.

Compound III도 Liebermann-Burchard test에서 양성(적자색)이었으며 compound II와 매우 유사한 분석 data를 보였다.  $^1H$ -NMR에서 doublet의  $CH_3$  (1.10 ppm,  $J=6.6$ Hz) 1개가 관측되었고, 3.02 ppm에서 C-18번의 proton이 singlet로 나타나므로써 19번 위치에 hydroxyl기가 도입된 형태를 예측할 수 있고 3.75 ppm에서 H-3 ( $J=ca.$  3.0Hz), 4.29 ppm에서 H-2(m)가 검출되므로써  $2\alpha, 3\alpha$ -dihydroxy의 구조를 예상할 수 있었다.  $^{13}C$ -NMR에서는 총 30개의 탄소가 검출되었고, 7개의  $CH_3$ , 8개의  $CH_2$ , 7개의 CH 및 8개의 4급탄소로 구성되어 있으며, 그중 이중결합 1개 (128.44 및 140.43 ppm)와 carboxylic acid (181.20 ppm)가 관찰되었다. 이중결합의 chemical shift로 보아 ursene계열 triterpenoid임을 추측할 수 있고,<sup>17)</sup> 특히 downfield shift된 128.44 ppm의 =CH- signal은 구조상 주변에 어떤 변화가 있음을 예측할 수 있게 하였으며 이는  $C_{19}$ 에 OH가 도입된 pomolic acid<sup>18)</sup>에서 관측되는 결과

와 흡사하였다. 즉 compound II에 비하여  $C_{19}$ 에 OH가 도입됨으로서 73.15ppm의 signal이 새로 나타나고 39.94 ppm의 peak가 소실되었다. 이와 같은 구조적 상황은  $C_{18}$ 의 chemical shift, C-2번과 C-3번 위치의 proton과 carbon의 chemical shift를 감안할 때  $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha$ -trihydroxy urs-12-ene형태로 추정할 수 있다. Mass spectrum을 보면 분자 ion peak가  $m/z$  488과 H+COOH가 탈락된  $m/z$  442가 잘 나타나 있고, retro Diels-Alder fragmentation에 의한 fragment ion인  $m/z$  233과  $m/z$  264는  $\Delta^{12}$ -triterpenoid의 전형적인 pattern을 보여주고 있으며 2개의 hydroxyl group이 A/B ring에 있고 1개의 OH와 COOH가 D/E ring에 있음을 암시해 주었다. 또한  $m/z$  264에서 유래된  $m/z$  218과  $m/z$  219, 더 나아가서  $C_4H_8O$ 가 탈락되어 나타난 base peak인  $m/z$  146과  $C_5H_{10}O$ 가 탈락된  $m/z$  133 등은 추정된 구조에 대한 예상 fragmentation pattern과 잘 일치함을 보여 주고 있다. 이상의 data들을 종합하여 compound III는 ursane 계열의 triterpenoid인  $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid (euscapic acid, jacarandic acid)로 동정하였다.

Compound IV은 Liebermann-Burchard 반응에서 오록색으로 나타나고 Molisch test에서 자색으로 나타나므로써 steroid배당체임을 예측할 수 있었으며 IR spectrum에서  $3396\text{ cm}^{-1}$ 의 broad band(OH)와  $1000\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 의 강한 흡수 band (C-O), 또한  $1600\text{ cm}^{-1}$  부근의 미약한 C=C band를 볼 수 있었다. Mass spectrum을 살펴보면, sugar part가 떨어져 나간 aglycone의 분자 ion peak인  $m/z$  414가 보이고 이것에서  $H_2O$ 가 떨어진  $m/z$  396이 base peak로 나타났다. 또한 aglycone에서 side chain ( $C_{10}H_{21}$ )과  $H_2O$ 가 탈락된  $m/z$  255 peak 등이  $\Delta^5$ -steroid의 특징을 잘 나타내고 있었다.  $^1H$ -NMR에서는  $\delta$  0.67과  $\delta$  0.93에서 angular  $CH_3$ 를,  $\delta$  5.02(d,  $J=7.8$ Hz)에서 당의 anomeric proton을 볼 수 있었고,  $^{13}C$ -NMR에서는 총 35개의 탄소가 검출되었고 당부분의 6개 탄소( $CH_2$  1개 및 CH 5개)를 제외하면 29개의 골격탄소를 가지고 있으며 이중결합이 1개이고 6개의  $CH_3$ 와 3개의 4급탄소를 감안할때  $\beta$ -sitosterol의 구조를 예상할 수 있

었으며, 3번 탄소 ( $\delta$  78.60)에 결합된 hydroxyl 기와 그곳에 결합된 당의 anomeric carbon ( $\delta$  103.04)이  $\beta$ -결합임을 알 수 있었고, 당부분의 탄소에 대한 chemical shift는  $\beta$ -D-glucose의 1번 위치의 OH가 ether 형태로 결합된 전형적인 형태를 보여 주었다.<sup>19)</sup> 본 화합물 compound IV에 대해서 acetylation 시켜보면 tetraacetate가 얻어지고  $^{13}\text{C}$ -NMR data상에서도 glucose 부분만 chemical shift가 upfield shift되었음을 볼 수 있었고, 다만 당이 결합된 aglycone 부분의 3번 탄소만이 downfield shift가 일어났음을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 compound IV는  $\beta$ -sitosteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside로 구조를 동정하였다.

Compound V는 TLC상에서 육안으로 황색을 띄었고, UV(254 nm)하에서는 검게 보였다. UV spectrum을 보면 알칼리용액(NaOH용액)을 가했을 때 장파장의 peak가 62 nm정도 shift되는 것을 보아 4'-OH가 free상태인 flavonoid의 구조를 예상할 수 있었다.<sup>20)</sup> 또한, IR spectrum에서 3370  $\text{cm}^{-1}$ 의 broad band, 1653  $\text{cm}^{-1}$ 의 C=O, 1608  $\text{cm}^{-1}$ 의 C=C, 및 1000~1200  $\text{cm}^{-1}$ 의 강한 여러 개의 C-O band 등이 flavonoid 배당체를 암시하고 있었다.  $^1\text{H}$ -NMR spectrum을 살펴보면, 12.63 ppm에서 분자내 hydrogen bonding을 강하게 하고 있는 5번탄소의 OH가 보이고 있으며, 6.41 ppm과 6.19 ppm에서 보이는 doublet( $J=2.0$  Hz)의 쌍은 A-ring의 H-6과 H-8이 meta coupling을 하고 있음을 보여 주고 있고, 7.64 ppm의 double doublet( $J=2.2, 8.5$ Hz)의 peak는 B-ring의 H-6'가 meta 위치의 H-2'(7.53 ppm, d,  $J=2.2$ Hz)와 ortho 위치의 H-5'(6.81 ppm, d,  $J=8.5$ Hz)와의 coupling pattern을 잘 나타내고 있으며, 전체적으로 methoxyl group이 검출되지 않았기 때문에 위와 같은 pattern의 flavonoid 구조는 quercetin을 예상하게 해주었다. 또한 5.38 ppm의 doublet ( $J=7.7$ Hz)의 signal은  $\beta$ -결합하고 있는 당의 anomeric proton을 잘 나타내고 있다.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서도 문헌<sup>21)</sup>의 quercetin의 chemical shift와 잘 일치하고 있으며, 다만 C<sub>3</sub>의 chemical shift가 당이 결합되지 않은 경우 (135~137 ppm) 보다 upfield

shift되었고(133.54 ppm), 특히 C<sub>2</sub>의 chemical shift가 약 9 ppm 정도 downfield shift(146.9 ppm  $\rightarrow$  156.36 ppm)되었으므로 C<sub>3</sub>에 당이 결합 되어 일어나는 glycosylation effect임을 알 수 있었다. 101.84 ppm에서 당의 anomeric carbon이 나타나 있고, 75.91, 73.24, 71.27, 68.00 및 60.22 ppm의 signal들은  $\beta$ -D-galactose의 chemical shift와 일치 하였다.<sup>21)</sup> Mass spectrum을 살펴보면 분자 ion peak는 보이지 않으나 당부분이 떨어진 peak로 aglycone의 분자 ion peak가  $m/z$  302에서 base 보이고 있으며, flavonol의 대표적인 fragment ion으로 pathway I과 II에 의해서 생긴  $m/z$  153과 137은 quercetin의 골격과 잘 일치하고 있다.<sup>22)</sup> 이상의 결과들을 종합하여 compound V는 quercetin-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside(hyperin)으로 동정하였다.

## 결 론

좁은잎산사나무 *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa*의 성숙한 열매의 MeOH extract의 ether 가용분획을 column chromatography하여 3종류의 triterpenoid[ursolic acid(I) (3 $\beta$ -hydroxy-12-urs-12-en-28-oic acid), corosolic acid(II) (2 $\alpha$ -hydroxy ursolic acid), euscaptic acid(III) (2 $\alpha$ , 3 $\alpha$ , 19 $\alpha$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid), 1개의 steroid glucoside [ $\beta$ -sitosteryl-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside(IV)] 및 1개의 flavonoid glycoside [hyperin(V) (quercetin-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside)]를 분리하여 그들의 화학구조를 동정하였다. *Crataegus*속 식물에서는 현재까지 triterpenoid로서는 ursolic acid, oleanolic acid, crataegolic acid가 알려져 있었으나, 좁은잎산사나무의 열매에서는 oleanane 계열의 triterpenoid는 발견되지 않았고 다만 ursane 계열의 triterpenoid만 분리되었으며, 특히 corosolic acid와 euscaptic acid는 처음으로 단리된 성분이었다.

<1994년 9월 23일 접수 : 10월 7일 수리>

## 참 고 문 헌

1. 정태현 : 한국식물도감, 신지사, 서울, p.217 (1957).
2. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, 서울, p.456 (1979).
3. 육창수 : 한국약품식물자원도감, 진명출판사, 서울, p.173 (1981).
4. 上海科學技術出版社 : 中藥大辭典(第二卷), 日本小學館, p.941 (1985).
5. 생약학 연구회 : 현대생약학, 학창사, 서울, p.125 (1991).
6. 이상인 : 한약임상응용, 정보사, 서울, p.485 (1986).
7. 김선희 : 본초학, 영림사, 서울, p.369 (1991).
8. Nikolov, N. and Wagner, H.: *Stud. Org. Chem.* 11, 325 (1981).
9. Nikolov, N.: *Phytochemistry* 20, 2780 (1981).
10. Xie, Y.: *Zhiwu Xuebao* 23, 383 (1981).
11. Ding, X.: *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 15, 295 (1990).
12. 오인세 : 좁은잎산사나무엽의 약효성분, 중앙대학교 박사학위 논문 (1992).
13. Sun, X. and Yao, Q.: *Zhongcaoyao* 18, 441, 454 (1987).
14. Theoder, B.: *Helv. Chim. Acta* 34, 1868 (1951).
15. Jia, Y. and Yan, X.: *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 14, 466 (1989).
16. 강삼식 : 생약학회지 18, 151 (1987).
17. Seo, S., Tomita, T. and Tori, K.: *Tetrahedron Lett.* 7 (1975).
18. Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S., Natori, S. and Nozoe, S.: *Natural Products Chemistry*, Kodansha (Tokyo), University Science Books(California), Vol. 3, pp.179~180 (1983).
19. 여호섭, 김진웅 : 생약학회지 23, 121 (1992).
20. 우원식 : 천연물화학연구법, 민음사, 서울, p.81 (1989).
21. Agrawal, P.K.: *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier, pp.38,91,336 (1989).
22. Harborne, J.D., Mabry, T.J. and Mabry, H.: *The flavonoids*, Part I, Academic Press, p.90 (1975).