

오령지 저극성 분획으로부터의 화합물 분리

김유나¹ · 심상희^{1,2*}

¹영남대학교 생명공학부, ²덕성여자대학교 약학대학

Compounds from Non-polar Fraction of the Feces of *Trogopterus xanthipes*

Yuna Kim¹ and Sang Hee Shim^{1,2*}

¹School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

²College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract – Thirteen compounds were isolated from *n*-hexane layer of the extracts of feces of *Trogopterus xanthipes*. Their chemical structures were elucidated as lupeol (1), lupenone (2), simiarenol (3), epitaraxerol (4), taraxerone (5), fatty acid esters of 11-oxo- β -amyirin (6), 12-oleane-3,11-dione (7), 5 β -stigmastan-3 α -ol (8), 5 β -stigmastan-3 β -ol (9), 5 α -stigmastan-3-one (10), 5 β -stigmastan-3-one (11), 5 β -cholestan-3 α -ol (12), and 2-methoxyphenanthrene (13) on the basis of spectroscopic data. Even though all the isolated compounds are known, to the best of our knowledge, all the compounds (1-13) are reported from this species for the first time.

Key words – *Trogopterus xanthipes*, Triterpenes, Steroids, Phenanthrene

오령지(五靈脂, *Trogopterus faeces*)는 주로 날다람쥐 (*Trogopterus xanthipes*, 날다람쥐과 *Petauristidae*)의 분변을 말린 것으로, 대한민국약전의 한약(생약)규격집(KHP)에 수록되어 있으며, 그 약리적 용도로 인해 한방에서는 예로부터 중요시 다루어져 왔다.¹⁾ 날다람쥐는 측백나무가 많은 산 속에 주로 살고 있으며, 주로 측백나무 열매나 잎을 먹는 것으로 알려져 있다. 오령지는 예로부터 혈액 순환을 원활하게 하고, 어혈을 제거해 주는 효능이 있다 하여 한방에서 많이 사용되어 왔다.¹⁾ 오령지는 빈혈, 생리통 또는 무월경 등의 주로 여성 질환에 효과적인 것으로 보고되어 왔고, 최근에는 오령지 추출물이 자궁 근종에 효과적인 것으로 보고된 바 있다.^{2,3)} 오령지의 화학적 성분으로는, 주로 diterpenoids, fatty acids, flavonoids 등이 보고되어 왔으며,^{4,9)} 특히 anticoagulation assay에서 flavonoid 성분들이 활성이 있음이 보고되었다.¹⁰⁾ 또한 오령지에서 pimarane 또는 isopimarane type의 diterpenoids가 분리, 보고되었는데 이들은 human cancer cell lines에 독성이 있는 것으로 보고되었다.¹¹⁾ 최근에는 오령지의 ethyl acetate층에서 세포독성 효능이 있는 neolignan계열의 화합물들이 본 연구의 저자들에 의해 보고되었다.¹²⁾

오령지 MeOH추출물을 극성에 따라 여러 분획으로 나누어 후 각각의 분획에 대해 TLC를 실시한 결과, 기존의 문헌과는 다소 상이하게 *n*-hexane분획에서 다양한 화합물이 분포하는 것으로 밝혀졌다. 이에 본 연구에서는 오령지 추출물의 저극성 분획을 대상으로 화학적 연구를 실시하여 13종의 화합물들을 분리하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용된 오령지는 2014년 3월 대구시 약령시장에서 구입하여 사용하였으며, 표본은 영남대학교 생명공학부 천연물화학 연구실에 보관 중이다.

기기 및 시약 – TLC(Thin layer chromatography)의 결과 확인은 UV detector(Vilber Lourmat, France)을 이용한 254 nm와 365 nm 파장에서 관찰하였고 발색을 병행하여 확인하였다. 단일 화합물의 구조를 규명하기 위해 이용한 NMR(Nuclear magnetic resonance) spectrum은 Varian VNS 600 spectrometer(¹H: 600 MHz, ¹³C: 150 MHz)와 Varian VNS 300 spectrometer(¹H: 300 MHz, ¹³C: 75 MHz) 그리고 Bruker DPX 300 spectrometer(¹H: 300 MHz, ¹³C: 75 MHz)를 사용하여 측정하였고, NMR chemical shift value는 part per million(ppm)단위로 나타내었다. 선광도 측

*교신저자(E-mail): shshim29@naver.com
(Tel): +82-2-901-8774

정을 위해서는 JASCO DIP-1000을 사용하였고, Mass spectrometer로는 Expression CMS(ADVION) 및 Jeol JMS600을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ (precoated, Merck Art. 5715)을 사용하였고 결과 확인을 위해 발색시약으로 20% aq. H₂SO₄를 사용하였다. Column chromatography용 고정상은 Kiesel gel 60(70-230 mesh, Merck Art. 7734)와 Sephadex LH-20(GE Healthcare, Sweden)를 사용하였다. Column chromatography용 유기용매는 시약용 1급(OCI company Ltd., DC chemical CO. Ltd.)을 사용하였다. NMR 측정을 위해 사용한 용매는 CDCl₃(Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)이다.

추출 - 오렌지 2.4 kg을 MeOH로 3회 환류추출하여, 감압 농축기로 용매를 제거하여 MeOH 추출물(110 g)을 얻었다. 이를 증류수에 현탁시켜 동량의 *n*-hexane을 가하여 *n*-hexane 층과 수층을 분획하는 과정을 3회 반복하였고, 분획물을 감압 농축하여 41g의 *n*-hexane 층을 얻었다.

분리 및 정제 - MeOH 추출물을 분획하여 얻은 *n*-hexane 분획층에 대하여 *n*-hexane/EtOAc 혼합용매로 기울기 용리(35:1→2:1, v/v)시켜 silica gel open column chromatography를 실시하여 총 8개의 분획을 얻었다(Fr. 1~Fr. 8). 얻어진 분획들 중 Fr. 1(6.7 g)에 대하여 *n*-hexane/methylene chloride 혼합용매로 기울기 용리(30:1→5:1, v/v)시켜 silica gel column chromatography를 한 번 더 수행하여 화합물 **2**(20 mg), 화합물 **5**(15 mg), 화합물 **10**(45 mg), 화합물 **11**(12 mg)을 분리하였다. 앞서 얻은 8개의 소분획 중 Fr. 2(10 g)도 *n*-hexane/EtOAc 혼합용매로 기울기 용리(30:1→1:1, v/v)시켜 silica gel column chromatography를 한 번 더 수행하여 subfraction(Fr. 2-1~Fr. 2-6)를 얻었다. 그 중 Fr. 2-2와 Fr. 2-3 그리고 Fr. 2-6을 acetone/MeOH/H₂O 혼합용매로 기울기 용리(2:2:1→5:5:1, v/v)시켜 RP-18 레진으로 reverse open column chromatography를 진행하였다. 그 결과 Fr. 2-2에서는 화합물 **3**(3 mg), 화합물 **4**(6 mg), 화합물 **6**(6 mg)을 분리하였고 Fr. 2-3에서는 화합물 **1**(34 mg)을 분리하였으며 Fr. 2-6에서는 화합물 **7**(10 mg), 화합물 **8**(20 mg), 화합물 **9**(6 mg), 화합물 **12**(2 mg) 및 화합물 **13**(4 mg)을 분리하였다.

Lupeol (1) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +12.5^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 4.67 (1H, s, H-29a), 4.55(1H, s, H-29b), 3.17 (1H, dd, *J*=11, 6.0 Hz, H-3), 3.26 (1H, m, H-19), 1.67, 1.02, 0.95, 0.93, 0.82, 0.76, and 0.75 (each 3H, s, CH₃×7); ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz), Table I; (+) ESI-MS *m/z*: 449 [M+Na]⁺.

Lupenone (2) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +36.3^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 4.65 (1H, s, H-29a), 4.54 (1H, s, H-29b), 2.38 (2H, m, H₂-2), 1.65, 1.04, 1.04, 0.99, 0.92, 0.90, and 0.76 (each 3H, s, CH₃×7); ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz), Table I; EI-MS *m/z*: 424 [M]⁺.

Simiarenol (3) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +19.7^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 5.59 (1H, m, H-6), 3.45 (1H, br s, H-3), 1.12, 1.03, 0.98, 0.90, 0.87, and 0.76 (each 3H, s, CH₃×6), 0.86 (3H, d, *J*=6.5 Hz, CH₃-29), and 0.80 (3H, d, *J*=6.5 Hz, CH₃-30); ¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz), Table I; (+) ESI-MS *m/z*: 449 [M+Na]⁺.

Epitaraxerol (4) - white powders. $[\alpha]_D^{20} 3.3^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 5.50(1H, dd, *J*=3.2, 8.2 Hz, H-15), 3.38 (1H, br s, H-3), 1.23, 1.07, 0.93, 0.92, 0.91, 0.89, 0.84, and 0.80 (each 3H, s, CH₃×8); ¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz), Table I; (+) ESI-MS *m/z*: 449 [M+Na]⁺.

Taraxerone (5) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +17.7^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 5.521H, dd, *J*=2.0, 4.2 Hz, H-15), 2.551H, m, H-2a), 2.311H, m, H-2b), 1.11, 1.05, 1.04, 1.03, 0.92, 0.88, 0.87, and 0.80each 3H, s, CH₃×8); ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz), Table I; EI-MS *m/z*: 424 [M]⁺.

Fatty acid esters of 11-oxo-β-amyryn (6) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +36.3^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ: 5.56 (1H, s, H-12), 4.49 (1H, dd, *J*=5.0, 11 Hz, H-3), 1.32, 1.22, 1.22, 1.13, 1.10, 0.87, 0.85, 0.82 (each 3H, s, CH₃×8), 1.25 [br s, (CH₂)_n in acyl moiety], 0.85 (br t, terminal methyl in acyl moiety); ¹³C-NMR in acyl moiety δ: 170.0, 29.9, 29.6, 22.9, 21.3, 14.1; (+) ESIMS *m/z*: 679 [M+H]⁺.

12-Oleane-3,11-dione (7) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +131.2^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 5.60 (1H, s, H-12), 2.94 (1H, m, H-2a), 2.61 (1H, m, H-2b), 2.41 (1H, s, H-9), 1.34, 1.24, 1.15, 1.08, 1.04, 0.88, 0.87, and 0.85 (each 3H, s, CH₃×8); ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz), Table I; (+) ESI-MS *m/z*: 439 [M+H]⁺.

5β-Stigmastan-3α-ol(8) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +30.7^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 3.60 (1H, m, H-3), 0.87 (3H, d, *J*=7.1 Hz, CH₃-21), 0.83 (3H, t, *J*=7.4 Hz, CH₃-29), 0.81 (3H, d, *J*=6.7 Hz, CH₃-26), 0.78 (3H, d, *J*=6.3 Hz, CH₃-27), 0.62 and 0.89 (each 3H, s, CH₃×2); ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz), Table I; EI-MS *m/z*: 416 [M]⁺.

5β-Stigmastan-3β-ol (9) - white powders. $[\alpha]_D^{20} +17.4^\circ$ (*c*, 0.1 in CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 4.08 (1H, br s, H-3), 0.90 (3H, d, *J*=6.4 Hz, CH₃-21), 0.87 (3H, t, *J*=7.3 Hz, CH₃-29), 0.82 (3H, d, *J*=6.7 Hz, CH₃-26), 0.80 (3H, d, *J*=6.7 Hz, CH₃-27), 0.94 and 0.63 (each 3H, s, CH₃×2); ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz), Table I; EI-MS *m/z*: 416 [M]⁺.

Table I. ^{13}C -chemical shifts for compounds **1-12**

Position	Compounds											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	38.7	39.8	18.3	33.1	38.6	39.0	40.0	35.6	30.2	38.7	37.3	35.6
2	27.4	33.8	28.0	25.1	34.4	23.8	32.3	30.8	28.1	38.4	37.5	30.8
3	79.0	218.5	76.6	76.2	217.8	80.9	217.4	72.1	67.4	212.3	213.7	72.1
4	38.9	47.5	41.1	37.4	47.8	38.3	48.0	36.7	33.8	44.9	42.6	36.7
5	55.3	55.1	142.2	49.2	56.0	55.2	55.6	42.3	36.8	46.9	44.6	42.4
6	18.3	19.9	122.2	18.7	20.2	17.6	19.0	27.4	26.5	29.3	26.0	27.5
7	34.3	34.3	24.3	41.2	37.8	32.6	31.3	26.7	26.9	31.9	26.9	26.7
8	40.8	41.0	44.5	39.2	39.1	43.6	36.9	36.1	35.9	35.6	35.8	36.0
9	50.4	50.0	35.1	48.9	48.9	61.9	61.2	40.7	40.0	54.0	41.0	40.7
10	37.2	37.1	50.5	35.8	36.0	37.1	34.4	34.8	35.4	35.8	35.1	34.8
11	20.9	21.7	34.4	17.4	17.7	200.4	199.7	21.1	21.3	21.6	21.4	21.1
12	25.1	25.3	29.2	33.8	37.9	128.3	128.2	40.4	40.5	40.1	40.3	40.5
13	38.1	38.4	38.8	37.5	36.9	171.2	171.3	42.9	43.0	42.8	43.0	42.9
14	42.8	43.1	39.5	158.2	157.8	45.7	43.7	56.8	56.9	56.3	56.5	56.8
15	27.4	27.6	29.3	116.7	117.4	26.6	26.7	24.5	24.5	24.4	24.4	24.5
16	35.6	35.7	35.6	37.7	38.0	26.7	26.6	28.6	28.6	28.4	28.5	28.6
17	43.0	43.2	43.0	38.0	35.3	32.2	32.6	56.5	56.5	56.5	56.7	56.6
18	48.3	48.4	52.0	48.7	49.0	47.8	47.9	12.2	12.2	12.2	12.3	12.3
19	48.0	48.1	20.2	36.7	40.8	45.4	45.5	23.6	24.1	11.6	22.9	23.6
20	150.9	151.0	28.5	28.8	29.0	31.3	30.0	36.4	36.4	36.3	36.4	36.1
21	29.8	30.0	60.3	32.2	33.8	34.7	34.6	18.9	19.0	18.9	19.0	19.0
22	40.0	40.2	31.0	35.1	33.3	36.7	36.7	34.1	34.2	34.1	34.1	36.4
23	28.0	26.8	29.3	28.2	21.7	28.3	26.6	26.3	26.3	26.2	26.3	24.1
24	15.4	21.2	25.7	22.2	21.6	16.6	18.8	46.1	46.1	46.0	46.1	39.7
25	16.1	16.2	18.1	15.2	15.0	16.9	15.9	29.4	29.4	29.9	29.4	28.2
26	16.0	16.0	16.0	26.0	26.3	18.9	21.6	20.0	20.0	20.0	20.1	22.8
27	14.5	14.7	15.2	21.2	25.8	23.6	29.0	19.3	19.3	19.2	19.3	23.0
28	18.0	18.2	16.3	29.80	33.6	29.0	23.7	23.3	23.3	23.2	23.3	
29	109.3	109.6	22.2	33.3	30.1	33.3	33.3	12.2	12.3	12.1	12.2	
30	19.3	19.5	23.1	29.9	30.0	23.7	23.6					

5 β -Stigmastan-3-one (10) – white powders. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +31.9^{\circ}$ (*c*, 0.1 in CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.31 (1H, m, H-2), 0.91 (3H, d, $J=6.3$ Hz, CH_3 -21), 0.84 (3H, t, $J=6.9$ Hz, CH_3 -29), 0.82 (3H, d, $J=6.6$ Hz, CH_3 -26), 0.80 (3H, d, $J=6.3$ Hz, CH_3 -27), 0.99 and 0.67 (each 3H, s, $\text{CH}_3 \times 2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz), Table I; EI-MS m/z : 414 $[\text{M}]^+$.

5 β -Stigmastan-3-one (11) – white powders. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +43.8^{\circ}$ (*c*, 0.1 in CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.67 (1H, t, H-2), 0.89 (3H, d, $J=6.5$ Hz, CH_3 -21), 0.833H, t, $J=7.2$ Hz, CH_3 -29), 0.813H, d, $J=6.7$ Hz, CH_3 -26)

0.793H, d, $J=6.7$ Hz, CH_3 -27), 1.01 and 0.66 each 3H, s, $\text{CH}_3 \times 2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz), Table I; EI-MS m/z : 414 $[\text{M}]^+$.

5 β -Cholestan-3 α -ol (12) – white powders. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +11.2^{\circ}$ (*c*, 0.1 in CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 3.60 (1H, m, H-3), 0.88 (3H, d, $J=6.7$ Hz, CH_3 -21), 0.85 (3H, d, $J=6.7$ Hz, CH_3 -26), 0.84 (3H, d, $J=6.7$ Hz, CH_3 -27), 0.90 and 0.62 (each 3H, s, $\text{CH}_3 \times 2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz), Table I; EI-MS m/z : 388 $[\text{M}]^+$.

2-methoxyphenanthrene (13) – white powders. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ : 7.73 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-4),

7.49 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.48 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-8), 7.38 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-6), 7.33 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-7), 7.32 (1H, m, H-9), 6.89 (1H, dd, $J=6.6, 2.4$ Hz, H-10), 6.70 (1H, dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, H-3), 6.63 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-1), 3.85 (3H, s, 2-OCH₃); ¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 101.6 (C-1), 161.1 (C-2), 110.3 (C-3) 12.8 (C-4) 124.5 (C-5), 127.4 (C-6), 127.2 (C-7), 113.0 (C-8), 119.9 (C-9), 107.7 (C-10), 55.5 (OCH₃), 153.2, 135.0, 121.2, and 113.7 (nonhydrogenated carbons); EI-MS m/z : 210 [M]⁺.

결과 및 고찰

오렌지 MeOH 추출물의 *n*-hexane 분획으로부터 open column chromatography, preparative TLC, 재결정 등의 방법으로 총 13종의 화합물을 분리하였다(Fig. 1).

화합물 1의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.02, 0.95, 0.93, 0.82, 0.76 및 0.75에서 6개의 angular methyl기를 확인하여 이 화합물이 triterpene계 화합물임을 추정할 수 있었다. 또한 δ 3.18에서 multiplet으로 나타나는 triterpene의 통상적인 3번 oxymethine proton을 확인할 수 있었다. δ 1.67에서 *sp*² carbon에 결합하고 있는 또 하나의 methyl기를 확인하였고, δ 4.67 및 4.55에서 각각 singlet으로 나타나는 두 개의 olefinic proton을 확인하여 이 화합물이 isopropenyl group을 함유하고 있는 lupane계열의 triterpenoid임을 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 총 30개의 탄소를 확인하여 triterpene임을 확인하였다. δ 28.0, 19.3, 18.0, 16.1, 16.0, 15.4 및 14.5에서 7개의 methyl기를 확인하였고, δ 79.0에서 3번의 oxymethine carbon을, δ 150.9 및 109.3에서 isopropenyl 기의 olefinic carbons을 확인할 수 있었다. 이상의 데이터를 문헌과 비교하여 이 화합물이 lupane계의 triterpenoid인 lupeol임을 확인할 수 있었다.¹³⁾

화합물 2의 ¹H-NMR spectrum은 화합물 1의 그것과 매우 유사하였다. 화합물 2 역시 isopropenyl 기를 포함하여 7개의 methyl기를 가지고 있는 lupane계의 triterpenoid임을 알 수 있었다. 화합물 1과 다른 점은 δ_H 3.18 및 δ_C 79.0에서 나타났던 oxymethine기가 사라지고, 대신 δ_C 218.5에서 ketone기가 나타났다는 점이다. 이로써 이 화합물은 화합물 1이 산화된 형태라는 것을 추정할 수 있었고, spectral data를 기존의 문헌과 비교하여 lupenone임을 확인할 수 있었다.¹⁴⁾

화합물 3의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.11, 1.02, 0.97, 0.89, 0.86 및 0.75에서 singlet으로 나타나는 6개의 angular methyl기를 확인하였고, δ 0.85 및 0.80에서 doublet으로 나타나는 두 개의 secondary methyl기를 확인하여, 이 화합물이 isopropyl기를 함유하고 있는 hopane계 triterpene임을 추정할 수 있었다. δ 5.59에서 broad한 doublet으로 나타나는

olefinic proton을, δ 3.44에서 3번의 oxymethine 기를 확인할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 총 30개의 탄소를 확인하였고, 특히 δ 150.9 및 109.3에서 5번, 6번 위치의 olefinic carbons을 확인할 수 있었다. 이상의 데이터를 문헌과 비교하여 이 화합물이 simiarenol임을 확인할 수 있었다.¹⁵⁾

화합물 4의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.23, 1.07, 0.93, 0.92, 0.91, 0.89, 0.84 및 0.80에서 8개의 angular methyl기를 확인할 수 있었고, 특히 δ 5.55에서 olefinic proton을, δ 3.38에서 3번 위치의 oxymethine proton을 확인할 수 있었다. 이 화합물의 ¹³C-NMR spectrum에서 δ 158.2 및 116.7에서 taraxerane골격의 특징적인 14번, 15번 olefinic carbon을 확인하여 이 화합물이 taraxerol임을 추정할 수 있었다. 그런데 3번 oxymethine proton이 δ 3.38에서 broad singlet으로 나타나고, 3번 탄소가 δ 76.2에서 나타나는 것으로써 이 화합물의 3위의 hydroxyl 기는 α configuration을 가지고 있는, 즉 taraxerol의 epimer형태임을 추정할 수 있었다. 이상의 spectral data를 문헌과 비교하여 이 화합물이 epitaraxerol임을 확인할 수 있었다.¹⁶⁾

화합물 5의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectrum은 화합물 4의 그것들과 매우 유사하였다. 차이점은 화합물 5에서는 화합물 4의 δ_H 3.38 및 δ_C 76.2에서 나타났던 oxymethine signal이 사라지고 대신 δ_C 217.8에서 ketone기가 나타났다는 점이다. MS에서도 화합물 4에 비해서 m/z 2가 부족한 화합물임을 확인하여, 화합물 5는 화합물 4의 hydroxyl기가 산화된 형태인 taraxerone임을 추정할 수 있었고, 문헌의 data와 비교하여 이를 확인할 수 있었다.¹⁷⁾

화합물 6의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.32, 1.22, 1.21, 1.13, 1.10, 0.87, 0.85 및 0.82에서 8개의 angular methyl기를, δ 5.60에서 singlet으로 나타나는 하나의 olefinic proton을, δ 4.49에서 3번 위치의 oxymethine proton을 확인할 수 있었다. Triterpene에서는 통상적으로 3번 oxymethine이 δ 3.5~4.0에서 나타나는데 이 화합물에서는 δ 4.49에서 저자장 shift 되어 나타나는 것으로 이 위치에 acylation되어 있음을 추정할 수 있었다. 또한 δ_H 1.25 및 δ_C 30에서 long chain의 fatty acyl group이 나타나는 것으로 이 화합물의 3번 위치에 지방산이 acylation되어 있음을 추정할 수 있었다. 이 화합물을 기존의 문헌과 비교하여 fatty acid esters of 11-oxo- β -amyrin로 동정할 수 있었다.¹⁸⁾ 이 화합물의 ¹H-NMR spectrum에서 어떤 olefinic signal도 확인할 수 없었으므로, 결합하고 있는 지방산은 포화지방산임을 추정할 수 있었고, 지방산의 종류는 이 화합물의 (+)-FABMS를 해석하여 결정할 수 있었다. m/z 679에서 [M+H]⁺에 해당하는 peak이 가장 크게 나타나 이 화합물에는 palmitic acid가 가장 많이 acylation되어 있음을 확인할 수 있었다.

화합물 7의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 1.34, 1.24, 1.15, 1.08, 1.04, 0.88, 0.87 및 0.85에서 8개의 angular methyl기

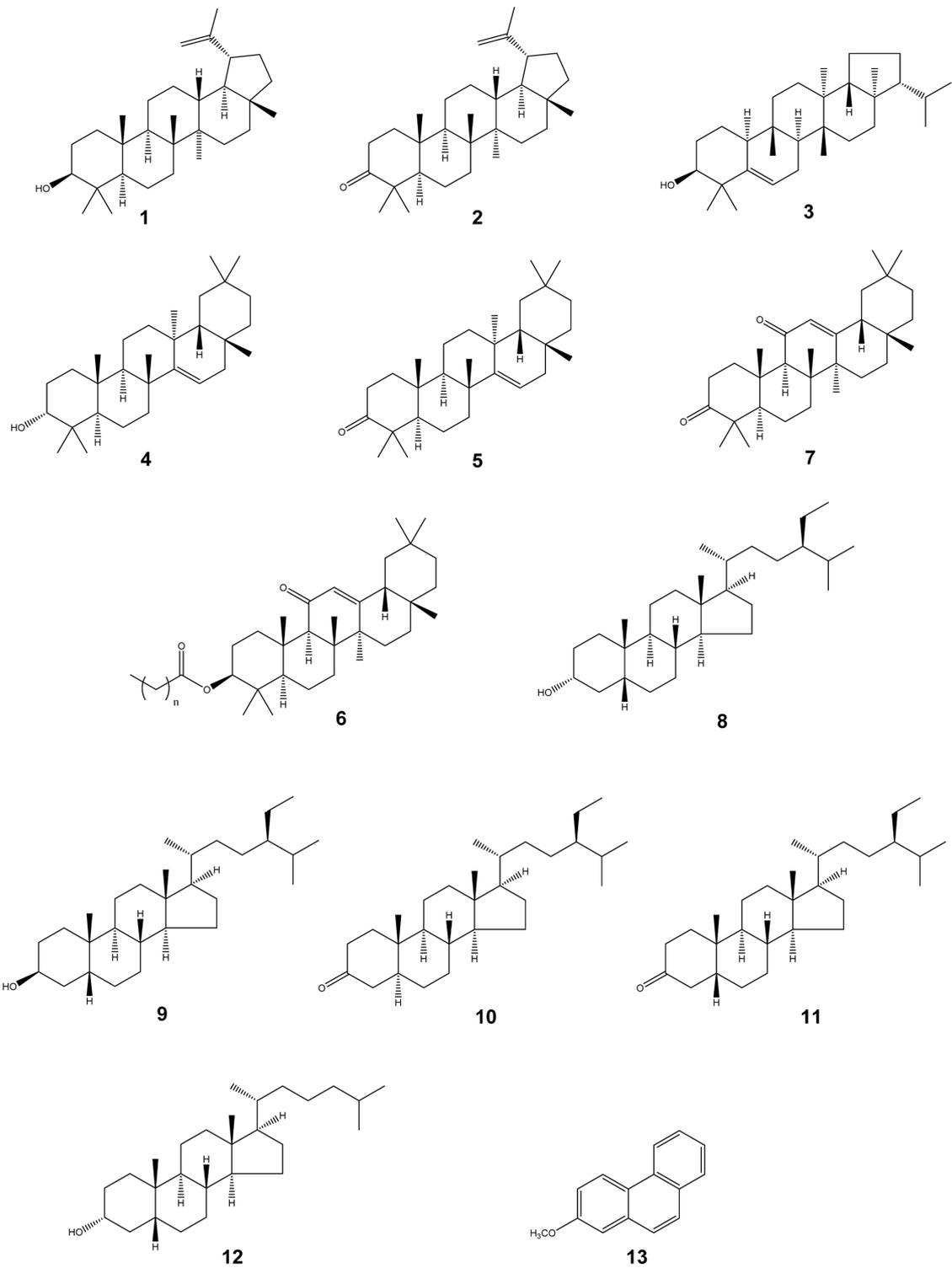


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1-13.

를 확인할 수 있었고, 특히 δ 5.60에서 singlet 으로 나타나는 하나의 olefinic proton을 확인할 수 있었다. 그러나, 통상적으로 나타나는 3번의 oxymethine proton시그널은 나타나지 않아 이 화합물은 3번 위치가 산화된 triterpene 형태임을

을 추정할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 δ 217.4 및 199.7에서 두 개의 ketone carbon을 확인하였고, δ 171.3 및 128.2에서 나타난 olefinic group은 carbonyl group과 conjugation하고 있음을 추정할 수 있었다. 따라서 이 화합

물은 oleanane 골격에 3번과 11번이 oxidation되어 있고, 11,12위치에 olefinic group이 conjugatin되어 있는 12-oleane-3,11-dione 임을 추정할 수 있었고, 이는 문헌의 spectral data를 비교함으로써 확인할 수 있었다.¹⁹⁾

화합물 8의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 0.89 및 0.62에서 두 개의 angular methyl기를, δ 0.87, 0.81 및 0.78 각각 doublet($J=7.8$ Hz)으로 나타나는 세 개의 secondary methyl기를, δ 0.83에서 triplet($J=7.2$ Hz)으로 나타나는 하나의 methyl기를 확인하여 이 화합물은 triterpene이 아닌 steroid 계열임을 추정할 수 있었다. 이 화합물의 ¹³C-NMR spectrum에서 전부 29개의 carbon signal을 확인하여 이 화합물이 stigmastane 계열의 steroid 화합물임을 확인할 수 있었다. 특히 9번 탄소가 δ 40.7에 나타난 것으로 이 화합물의 5번 탄소는 β configuration을 가지는 것으로 예상할 수 있었다. 이상의 spectral data를 문헌과 비교하여 이 화합물을 5 β -stigmastan-3 β -ol²⁰⁾으로 동정하였다.

화합물 9의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectra는 화합물 8의 그것들과 매우 유사하였다. 차이점은 화합물 8에서 δ 72.1에 나타났던 3번 탄소가 화합물 9에서는 δ 67.4에서 나타났다는 점이다. 이로써 3번 위치에 hydroxyl 기의 configuration이 다른 형태임을 추정할 수 있었고, hydroxyl기에 대해 δ 위치에 있는 1번 및 5번 탄소의 chemical shift가 크게 다른 것으로서 이 사실을 확인할 수 있었다. 이 data를 문헌치와 비교함으로써 화합물 9를 5 β -stigmastan-3 β -ol²⁰⁾으로 동정할 수 있었다.

화합물 10의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectra도 화합물 8 및 9와 유사하여 화합물 10 역시 stigmastane 타입의 steroid계 화합물임을 추정할 수 있었다. 차이점은 화합물 10에서는 3번 위치의 oxymethine signal들이 사라지고, 대신 ketone group이 나타나 이 화합물은 화합물 8과 9에 비해 3번 위치가 산화된 형태임을 추정할 수 있었다. 또한 화합물 8과 9에서는 δ 40 근처에서 나타났던 9번 탄소가 화합물 10에서는 δ 54에서 나타나 이 화합물의 5번 proton은 β configuration에 있음을 추정할 수 있었다. 이상의 data를 문헌과 비교하여 이 화합물을 5 β -stigmastan-3-one²¹⁾으로 동정할 수 있었다.

화합물 11의 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectra도 화합물 10과 매우 유사하였다. 차이점은 화합물 10에서는 δ 54에서 나타났던 9번 탄소가 화합물 11에서는 δ 41에서 나타나 이 화합물의 5번 proton은 β configuration에 있음을 추정할 수 있었다. 이상의 data를 문헌과 비교하여 이 화합물을 5 β -stigmastan-3-one²¹⁾으로 동정할 수 있었다.

화합물 12의 ¹H-NMR spectrum에서 δ 0.90 및 0.62에서 두 개의 angular methyl기를, δ 0.88, 0.85 및 0.84에서 각각 doublet($J=6.7$ Hz)으로 나타나는 세 개의 secondary methyl기를 확인하였고, ¹³C-NMR spectrum에서 전부 27개의 carbon signal을 확인하여 이 화합물이 cholestane 계열의

steroid 화합물임을 추정할 수 있었다. 또한 이 화합물의 9번 탄소는 δ 40.7에서 나타나 5번 proton이 β configuration에 있음을 추정할 수 있었다. 이상의 data를 문헌과 비교하여 이 화합물을 5 β -cholestan-3 α -ol²²⁾으로 동정할 수 있었다.

화합물 13은 20% 황산발색 시약에서 특징적인 푸른색을 나타냈다. 이 화합물의 ¹H 및 ¹³C-NMR은 기존에 분리된 화합물들과 완전히 다르게 aromatic proton signal들만 나타났다. 이 화합물의 NMR spectra에서 δ_H 6.5~7.8에서 9개의 aromatic proton signal들이, δ_C 100~165에서 14개의 aromatic carbon signal들이, 또한 δ_H 3.85; δ_C 55.5에서 하나의 methoxy기가 확인되었다. 이 화합물의 aromatic carbon signal의 개수 및 proton signal들의 coupling pattern을 통해 benzene ring 세 개가 서로 fusion되어 있는 형태임을 예상하였고, proton signal들의 coupling constants 및 ¹H-¹H COSY spectrum을 통하여 ABX, AB 및 ABCD proton system을 가지는 benzene ring 세 개가 서로 fusion되어 있는 phenanthrene계 화합물임을 추정할 수 있었다. δ_H 3.85에서 나타난 proton이 δ_C 161.1의 carbon과 HMBC correlation하는 것으로 methoxy기가 2번 위치에 결합하고 있음을 확인할 수 있었다. 이상의 spectral data를 문헌과 비교하여 이 화합물을 2-methoxyphenanthrene²³⁾으로 동정하였다.

이 연구에서 오령지 추출물의 저극성 분획으로부터 13종의 화합물, 즉 2종의 lupane 형태의 triterpenes(화합물 1과 2), 1종의 hopane 형태의 triterpene(화합물 3), 2종의 taraxerane 형태의 triterpenes(화합물 4와 5), 2종의 oleanane 형태의 triterpenes(화합물 6와 7), 4종의 stigmastane 형태의 steroids(화합물 8, 9, 10 및 11), 1종의 cholestane 형태의 steroid(화합물 12) 및 1종의 phenanthrene계 화합물(13)이 분리되었다. 오령지에서 분리된 triterpene 화합물들은 대부분이 ursane 형태인 것으로 보고되어 있는 반면,^{5,6)} 본 연구에서 분리된 triterpene은 oleanane, lupane, hopane 및 taraxerane으로 기존의 연구결과와는 차이를 보였다. 본 연구에서 분리된 steroid 계열의 화합물들도 오령지에서는 처음으로 분리되었다. 그리고 본 연구에서 분리된 2-methoxyphenanthrene은 천연에서는 처음으로 분리보고되는 화합물이다. 따라서 본 연구에서 분리된 13종의 화합물 모두 오령지에서는 처음으로 분리보고되는 물질들이다.

결론

오령지 추출물의 *n*-hexane 분획으로부터 총 13종의 화합물들을 분리하였다. 분리된 화합물들은 spectral data를 바탕으로 각각 lupeol(1), lupenone(2), simiarenol(3), epitaraxerol(4), taraxerone(5), fatty acid esters of 11-oxo- β -amyrin(6), 12-oleane-3,11-dione(7), 5 β -stigmastan-3 α -ol(8), 5 β -stigmastan-3 β -ol(9), 5 α -stigmastan-3-one(10), 5 β -stigmastan-3-one

(11), 5 β -cholestan-3 α -ol(12) 및 2-methoxyphenanthrene(13)로 동정하였다. 분리된 화합물들이 알려진 구조의 화합물이라 할지라도, 본 연구에서 분리된 13종의 화합물 모두 오렝지에서는 처음으로 분리보고되는 바이다. 본 연구결과가 기존의 연구와 차이를 나타내는 것은 오렝지가 식물이 아닌 날다람쥐의 분변을 말린 것이므로, 날다람쥐의 먹이에 따른 차이가 분포하는 화합물에 반영된 것으로 사료된다.

인용문헌

1. Tang, X. G. and Huang, W. Q. (2008) A summary of pharmacology and clinical application of feces *Trogopterus*. *J. Emerg. Tradi. Chin. Med.* **17**: 101-102.
2. Yang, N. Y., Tao, W. W. and Duan, J. A. (2009) Four new long-chain aliphatics from the feces of *Trogopterus xanthipes*. *J. Asian. Nat. Prod. Res.* **11**: 1032-1039.
3. Mu, Y.L., Shi, M., Liu, M., Tang, C.S. and Ye, F. (2009) Uterine leiomyoma and traditional medicine. *J. Chin. Clin. Med.* **4**: 706-711.
4. Zhao, J., Zhu, H. J., Zhou, X. J., Yang, T. H., Wang, Y. Y., Su, J., Li, Y. and Cheng, Y. X. (2010) Diterpenoids from the feces of *Trogopterus xanthipes*. *J. Nat. Prod.* **73**: 865-869.
5. Numata, A., Takahashi, C., Miyamoto, T., Yoneda, M. and Yang, P.M. (1990) New triterpenes from a Chinese medicine, goreishi. *Chem. Pharm. Bull.* **38**: 942-944.
6. Numata, A., Yang, P.M., Takahashi, C., Fujiki, R., Nabae, M. and Fujita, E. (1989) Cytotoxic triterpenes from a Chinese medicine, Goreishi. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 648-651.
7. Yang, N. Y., Tao, W. W. and Duan, J. A. (2009) Four new long-chain aliphatics from the feces of *Trogopterus xanthipes*. *J. Asian. Nat. Prod. Res.* **11**: 1032-1039.
8. Zhao, J., Dai, L.X., Lei, T., Lu, Q. and Cheng, Y. X. (2010) Chemical constituents of *Trogopterus xanthipes*. *Nat. Prod. Res. Dev.* **22**: 541-543.
9. Zhao, J., Zhu, H. J., Zhou, X. J., Yang, T. H., Wang, Y. Y., Su, J., Li, Y. and Cheng, Y. X. (2010) Diterpenoids from the feces of *Trogopterus xanthipes*. *J. Nat. Prod.* **73**: 865-869.
10. Yang, N. Y., Tao, W. W. and Duan, J. A. (2010) Anti-thrombotic flavonoids from the faeces of *Trogopterus xanthipes*. *Nat. Prod. Res.* **24**: 1843-1849.
11. Yang, N. Y., Tao, W. W., Zhu, M., Duan, J. A. and Jiang, J. G. (2010) Two new isopimarane diterpenes from the feces of *Trogopterus xanthipes*. *Fitoterapia* **81**: 381-384.
12. Baek, S., Xia, X., Min, B. S., Park, C. and Shim, S. H. (2014) Trogopterins A-C: Three new neolignans from faeces of *Trogopterus xanthipes*. *Beilstein J. Org. Chem.* **10**: 2955-2962.
13. Fotie, J., Bohle., D. S., Leimanis, M., Georges, A., Rukunga, G. and Nkengfack, A. E. (2006) Lupeol long-chain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarrhena floribunda*. *J. Nat. Prod.* **69**: 62-67
14. Yonemoto, R., Shimada, M., Gunawan-Puteri, M. D., Kato, E. and Kawabata, J. (2014) α -Amylase inhibitory triterpene from *Abrus precatorius* leaves. *J. Agric. Food Chem.* **62**: 8411-8414.
15. Jin, Q., Ko, H. J., Chang, Y.-S. and Woo, E.-R. (2013) Chemical constituents from the aerial parts of *Aster yomena*. *Nat. Prod. Sci.* **19**: 269-274.
16. Tsai, P.-W., De castro-cruz, K. A., Shen, C.-C. and Ragasa, C. Y. (2012) Chemical constituents of *Broussonetia luzonicus*. *Phcog. J.* **4**: 1-4.
17. Koay, Y. C., Wong, K. C., Osman, H., Eldeen, I. M. S. and Asmawi, M. Z. (2013) Chemical constituents and biological activities of *Strobilanthes crispus* L. *Rec. Nat. Prod.* **7**: 59-64.
18. Wahlberg, I., Karlsson, K. and Enzell, C. R. (1972) Non-volatile constituents of deertongue leaf. *Acta Chem. Scand.* **26**: 1383-1388.
19. Hu, H., Wang, K., Wu, B., Sun, C. and Pan, Y. (2005) Chemical shift assignments of two oleanane triterpenes from *Euonymus hederaceus*. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **6**: 719-721.
20. Rakhit, S., Dhar, M. M., Anand, N. and Dhar, M. L. (1959) Chemical investigations of *Daemia extensa*. *J. Sci. Ind. Res. INDIA* **18B**: 422-426.
21. Luo, J.-R., Ma, Q.-Y., Zhao, Y.-X., Yi, T.-M., Li, C.-S. and Zhou, J. (2009) Palaeophytochemical components from the miocene-fossil wood of *Pinus griffithii*. *J. Chin. Chem. So.* **56**: 600-605.
22. Leibfritz, D. and Roberts, J. D., J. (1973) Nuclear magnetic resonance spectroscopy. Carbon-13 spectra of cholic acids and hydrocarbons included in sodium desoxycholate solutions. *J. Am. Chem. Soc.* **95**: 4996-5003.
23. Jana, R., Biswas, A., Samanta, S. and Ray, J. K. (2010) Synthesis of phenanthrene and alkyl phenanthrenes by palladium(O)-catalyzed pericyclic reactions. *Synthesis* **12**: 2092-2100.

(2015. 1. 16 접수; 2015. 2. 6 심사; 2015. 2. 12 게재확정)