

상기생의 트라이테르펜 및 페놀성 성분

최상진 · 권학철 · 정애경 · 최상운* · 김경란 · 이선미 · 표석능 · 이강노[#]

성균관대학교 약학대학, *한국화학연구소

(Received November 2, 2001; Revised November 27, 2001)

Triterpenes and Phenolic Constituents from *Viscum album* L.

Sang Zin Choi, Hak Cheol Kwon, Ae Kyung Chung, Sang Un Choi*, Kyung Ran Kim, Sun Mee Lee, Suhk Neung Pyo and Kang Ro Lee[#]

College of Pharmacy, SungKyunKwan University, Suwon 440-746, Korea

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea

Abstract — The phytochemical study of *Viscum album* (Loranthaceae) led to the isolation of twelve compounds, lupeol (1), betulonic acid (2), betulinic acid (3), terminic acid (4), ursolic acid (5), β -sitosterol (6), α -spinasterol (7), oleanolic acid (8), 5-hydroxy-1-(4'-hydroxyphenyl)-7-(4''-hydroxyphenyl)-hepta-1-en-3-on (9), 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxychalcone-4-O-glucoside (10), 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxychalcone-4-O-[apiosyl(1 \rightarrow 2)]glucoside (11) and syringin (12). Their structures were established by chemical and spectroscopic methods. The cytotoxicity of the isolated compounds was evaluated by sulforhodamine B assay against five cultured human tumor cell lines.

Keywords □ *Viscum album*, Loranthaceae, lupeol, betulonic acid, betulinic acid, terminic acid, ursolic acid, β -sitosterol, α -spinasterol, oleanolic acid, 5-hydroxy-1-(4'-hydroxyphenyl)-7-(4''-hydroxyphenyl)-hepta-1-en-3-on, 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxychalcone-4-O-glucoside, 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxychalcone-4-O-[apiosyl(1 \rightarrow 2)]glucoside, syringin, cytotoxicity

상기생(*Viscum album* L. var. *coloratum*)은 겨우살이과(Loranthaceae)에 속하는 참나무, 팽나무, 물오리나무, 밤나무 및 자작나무에 기생하는 늘푸른떨기나무로서 우리나라 전역에 분포하고 산후요통, 동상, 진경, 통경 및 동맥경화 등의 치료약으로서 사용되어 왔으며 민간에서는 면역증강 및 항암보조 요법제로 널리 사용되어 왔다.¹⁾ 문헌조사 결과 지금까지 상기생에서는 flavonoid, triterpene,²⁾ lectin,³⁾ polysaccharide⁴⁾ 및 alkaloid⁵⁾등이 보고되었다. 천연물 유래 항암 및 면역활성물질 연구에서 상기생이 민간에서 항암 및 면역증강제로 많이 사용됨을 알게되었으며 이들 활성에 대한

성분의 규명에 있어서 1차적으로 상기생의 일반성분을 연구하게 되었다. 즉, 상기생의 데탄올 엑기스에서 용매분획과 반복적인 칼럼 크로마토그래피를 통하여 2종의 sterol, 6종의 triterpene, 1종의 diarylheptanoid, 2종의 flavonoid 및 1종의 phenolic glycoside를 분리, 정제하였다. 분리된 화합물들의 아화학적 성상 및 기기분석 자료를 통하여 그 구조를 규명하였으며 화합물들의 항암활성은 *in vitro*에서 5종의 암세포에 대하여 검색하였으며 면역활성은 연구중에 있다.

실험방법

실험재료 — 본 실험에 사용된 상기생 (*Viscum album* L. var. *coloratum*, Loranthaceae)은 2000년 7월에 경동시장에서 구입하여 정확히 감정하고 건조한 후에

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 031-290-7710 (팩스) 031-290-7730
(E-mail) krlee@yurim.skku.ac.kr

세절하여 사용하였고, 표본은 성균관대학교 약학대학 표본실 (표본번호 SKK-00-005)에 보관되어 있다.

기기 및 시약 - 용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. NMR은 Bruker AMX 500과 Varian UNITY INOVA-500 spectrophotometer를 사용하였다. EI Mass spectrum은 VG70-VSEQ mass spectrometer (VG Analytical, UK)를 사용하여 측정하였다. LPLC 용 column은 Lobar[®]-A Lichroprep Si 60 (Merck) column을 사용하였고 pump는 DURAMAT 80 pump (Germany)를 사용하였다. 분취용 HPLC는 JAI LC 908 model(Japan analytical instrument)로서 detector는 UV detector와 RI detector를 동시에 사용하였고 column은 JAIGEL 1H(20×900 mm)와 2H(20×900 mm)를 연결하여 사용하였다. Column packing용 silica gel은 Kiesel gel 60(Merck)를 사용하였고, sephadex는 lipophilic sephadex LH-20(Sigma)을 사용하였으며, TLC plate는 Kiesel gel 60F₂₅₄(Merck)을 사용하였다. 발색 시약은 10% H₂SO₄(in EtOH)을 사용하였으며 UV 254 nm, 365 nm detection을 병행하였다. 추출, 분취 및 column chromatography용 시약은 1급 시약을 정제 없이 사용하였고 나머지 시약은 1급 시약을 정제해서 사용하거나 특급 시약을 사용하였다. 세포독성 실험은 sulforhodamin B (SRB) bioassay 방법을 응용하여 수행하였다.⁶⁾ 실험에 사용한 암세포주들은 A549 (non small cell lung carcinoma), SK-OV-3 (adenocarcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2 (malignant melanoma, metastasis to skin of thigh), XF-498 (central nerve system tumor) 및 HCT-15 (colon adenocarcinoma) 등이다.

추출 및 분취 - 건조중량 약 3 kg의 세절한 상기생을 5일간 methanol (MeOH)용매로 상온 냉침하고 (2회), 50°C로 5시간 온침하였다. 추출액을 수욕상에서 감압 농축하여 MeOH 액기스 350 g을 얻었으며, 이를 n-hexane, chloroform (CHCl₃)과 butanol (BuOH)로 용매분취하여 n-hexane (45 g), CHCl₃ (30 g) 및 BuOH (30 g) 분취으로부터 화합물 12종을 분리하였다.

화합물의 분리 - n-hexane 분취 (45 g)을 SiO₂ column chromatography (hexane : ethyl acetate = 10 : 1 ~ 0 : 1) 실시하여 7개의 분취(H1~H7)으로 나누었으며, H3 (6 g) 분취를 n-hexane : EtOAc(4 : 1)를 유출용매로 silica gel column chromatography를 수행한 후,

Sephadex LH-20(CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)과 Lobar[®]-A column chromatography(hexane : ethyl acetate = 4 : 1)로 정제하여 백색 분말상의 화합물 1 (20 mg)을 얻었다. H4(7 g)분취는 n-hexane : EtOAc (4 : 1)를 유출용매로 silica gel column chromatography를 수행하여 3개의 소분취 (H41~H43)를 얻은 후, H41 (1 g) 분취를 Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)과 RP Lobar[®]-A (MeCN) column chromatography를 시행하여 백색 분말상의 화합물 2 (15 mg)를 얻었다. H42 (2 g) 분취를 Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)으로 다시 3 개의 소분취 H421, H422 및 H423으로 나눈 후, 소분취 H421 (800 mg)을 Lobar[®]-A (hexane : ethyl acetate = 4 : 1)로 정제하여 백색 분말상 화합물 3 (150 mg)을 얻었고, 소분취 H422 (500 mg)을 RP Lobar[®]-A (MeCN) column chromatography로 정제하여 백색 분말상 화합물 4 (30 mg)을 얻었으며 소분취 H423 (300 mg)을 Lobar[®]-A (hexane : ethyl acetate = 3 : 1)로 정제하여 백색 분말상 화합물 5 (15 mg)를 얻었다. H43 (1 g)분취는 Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)과 Lobar[®]-A column chromatography (hexane : ethyl acetate = 3 : 1)를 시행하여 백색 분말상의 화합물 6 (20 mg)을 얻었다. CHCl₃ 분취 (30 g)에서는 SiO₂ column chromatography (CHCl₃ : MeOH = 40 : 1)를 시행하여 4개의 분취 (C1~C4)으로 나눈 후, C1 (10 g)분취를 Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)과 SiO₂ column chromatography (CHCl₃ : MeOH = 30 : 1)를 시행하여 결정상 화합물 7 (80 mg)을 얻었다. C2 (8 g) 분취는 SiO₂ column chromatography (CHCl₃ : MeOH = 30 : 1)를 시행한 후, Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)과 Lobar[®]-A column chromatography (hexane : ethyl acetate = 1.5 : 1)로 정제하여 백색 분말상 화합물 8 (400 mg)을 얻었다. BuOH 분취 (30 g)은 SiO₂ column chromatography (CHCl₃ : MeOH = 10 : 1 ~ 5 : 1)를 시행하여서 세 개의 분취 (B1~B3)으로 나눈 후, B1 (5 g) 분취를 Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂ : MeOH = 1 : 1)과 Lobar[®]-A column chromatography (hexane : ethyl acetate = 1 : 2)를 시행하여 백색 분말상 화합물 9 (20 mg)를 얻었으며, B2 (12 g) 분취으로부터 Sephadex LH-20 및 SiO₂ column chromatography를 통하여 화합물 10 (15 mg) 및 화합물 11 (20 mg)을 얻었다. B3 (6 g)은

Sephadex LH-20 (CH₂Cl₂:MeOH = 1:1)과 SiO₂ column chromatography (CHCl₃:ethyl acetate:MeOH = 9:2:0.5)를 시행하여 무색 결정상 화합물 12 (12 mg)를 얻었다.

화합물 1 - white powder, mp : 210°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 426 (M⁺, 14), ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) : 4.69 and 4.56 (each 1H, brs, H-29), 3.18 (1H, m, H-3), 1.69 (3H, s, H-30), 1.04 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-23), 0.97 (3H, s, H-27), 0.84 (3H, s, H-25), 0.79 (3H, s, H-28), 0.77 (3H, s, H-24), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : 15.2 (C-27), 16.2 (C-24), 16.7 (C-26), 16.8 (C-25), 18.6 (C-28), 19.0 (C-6), 19.9 (C-30), 21.6 (C-11), 25.8 (C-12), 28.0 (C-2), 28.2 (C-15), 28.6 (C-23), 30.5 (C-21), 34.9 (C-7), 36.2 (C-16), 37.8 (C-10) 38.8 (C-13), 39.3 (C-1), 39.5 (C-4), 40.6 (C-22), 41.5 (C-8), 43.4 (C-14), 43.7 (C-17), 48.6 (C-19), 49.0 (C-18), 51.0 (C-9), 56.0 (C-5), 79.6 (C-3), 110.0 (C-29), 151.6 (C-20)

화합물 2 - white powder, mp : 258°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 454 (M⁺, 8), ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) : 4.74 and 4.61 (each 1H, brs, H-29), 1.69 (3H, s, H-30), 1.44, 1.08, 1.01, 0.99, 0.97 (each 3H, s), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : 15.3 (C-27), 16.5 (C-26), 16.6 (C-25), 20.0 (C-30), 20.3 (C-6), 21.6 (C-24), 22.0 (C-11), 26.2 (C-12), 27.3 (C-23), 30.3 (C-21), 31.2 (C-15), 32.8 (C-16), 34.3 (C-7), 34.8 (C-2), 37.6 (C-22), 37.7 (C-10) 39.2 (C-13), 40.3 (C-1), 41.3 (C-8), 43.2 (C-14), 47.5 (C-19), 48.0 (C-4), 49.9 (C-18), 50.5 (C-9), 55.6 (C-5), 57.0 (C-17), 110.4 (C-29), 150.9 (C-20), 182.1 (C-28), 218.7 (C-3)

화합물 3 - white powder, mp : 282°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 456 (M⁺, 30), 438 (12), 411 (6), 248 (45), 228 (58), 207 (66), 203 (38), 189 (100), ¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) : 4.94 (1H, d, J=2.0Hz), 4.77 (1H, s), 3.55 (1H, m, H-3), 1.80, 1.23, 1.08, 1.07, 1.02 and 0.83 (each 3H, s, 6×H₃), ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) : 15.6 (C-27), 17.1 (C-24), 17.2 (C-25), 16.1 (C-26), 18.3 (C-6), 19.4 (C-30), 20.8 (C-11), 25.5 (C-12), 27.4 (C-2), 27.9 (C-23), 29.7 (C-21), 30.5 (C-15), 32.1 (C-16), 34.3 (C-7), 37.0 (C-22), 37.2 (C-10) 38.4 (C-13), 38.7 (C-1), 38.8 (C-4), 42.0 (C-8), 43.6 (C-14), 48.5 (C-18), 50.4 (C-19), 51.5 (C-9), 57.4 (C-5), 58.1 (C-17), 80.5 (C-3), 110.6 (C-29), 152.1 (C-20), 179.6 (C-28)

화합물 4 - white powder, mp : 290°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 472 (M⁺, 6), ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) : 4.84 (1H, brs), 4.73 (1H, brs), 3.93 (1H, m), 3.10 (1H, m), 1.82, 1.39, 1.19, 1.10, 1.08 and 0.98 (each 3H, s, 6×H₃), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : 15.8 (C-27), 16.8 (C-23), 17.2 (C-26), 17.6 (C-25), 18.7 (C-6), 19.8 (C-30), 21.4 (C-11), 26.5 (C-12), 28.3 (C-24), 29.4 (C-2), 30.5 (C-15), 32.0 (C-21), 34.6 (C-7), 37.6 (C-22), 38.4 (C-10), 38.7 (C-4), 39.8 (C-1), 41.9 (C-8), 43.6 (C-14), 49.5 (C-19), 50.6 (C-18), 51.7 (C-9), 56.9 (C-5), 57.8 (C-17), 79.6 (C-3), 80.8 (C-13), 110.1 (C-29), 151.9 (C-20), 179.8 (C-28)

화합물 5 - white powder, mp : 280°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 456 (M⁺, 2), 438, 411, 248, 203, 189, ¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) : 0.91 (3H, s, H-25) 0.97 (3H, d, J=6.5 Hz, H-29), 1.02 (3H, d, J=6.5 Hz, H-30), 1.05, 1.08, 1.25 and 1.28 (each 3H, s, H-23, 27, 26, 24), 2.67 (1H, d, J=3.5 Hz, H-18) 3.48 (1H, dd, J=6.0, 9.5 Hz, H-3), 5.52 (1H, t, J=3.5 Hz, H-12), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : 16.5 (C-26), 17.4 (C-25), 17.5 (C-24), 18.6 (C-6), 21.5 (C-29), 23.7 (C-16), 23.8 (C-23), 23.9 (C-30), 24.0 (C-2), 24.2 (C-11), 24.7 (C-27), 27.8 (C-21), 29.8 (C-15), 30.7 (C-20), 31.0 (C-19), 33.3 (C-7), 37.1 (C-10), 37.4 (C-22), 38.9 (C-1), 39.6 (C-8), 39.9 (C-4), 42.4 (C-14), 47.1 (C-9), 48.3 (C-17), 53.2 (C-5), 55.7 (C-18), 79.4 (C-3), 126.3 (C-12), 138.4 (C-13), 176.5 (C-28)

화합물 8 - white powder, mp : 197°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 456 (M⁺, 6), 248 (100), 207 (30), 204 (32), 203 (72), 189 (30), ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) : 0.74, 0.79, 0.89, 0.91, 0.92, 0.98 and 1.12 (each 3H, s), 2.83 (1H, bdd, J=4.0, 14.0 Hz), 3.22 (1H, bdd, J=4.0, 9.5 Hz) and 5.28 (each 1H, m), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : 16.0 (C-25), 16.5 (C-24), 17.8 (C-26), 18.9 (C-6), 23.8 (C-30, 16, 11), 26.2 (C-27), 28.2 (C-2), 28.3 (C-15), 28.7 (C-23), 31.0 (C-20), 33.3 (C-29, 22, 7), 34.3 (C-21), 37.4 (C-10), 38.9 (C-1), 39.4 (C-4), 39.8 (C-8), 42.0 (C-18,14), 46.7 (C-19,17), 48.3 (C-9), 55.9 (C-5), 79.7 (C-3), 123.3 (C-12), 144.3 (C-13), 184.3 (C-28)

화합물 9 - white powder, EI-MS m/z (rel. int.) : 312 (M⁺, 91), 294 (27), 292 (15), 212 (6), 188 (49), 162 (70), 119 (82), 107 (87), 91 (76), 77 (52), 55 (36), 53

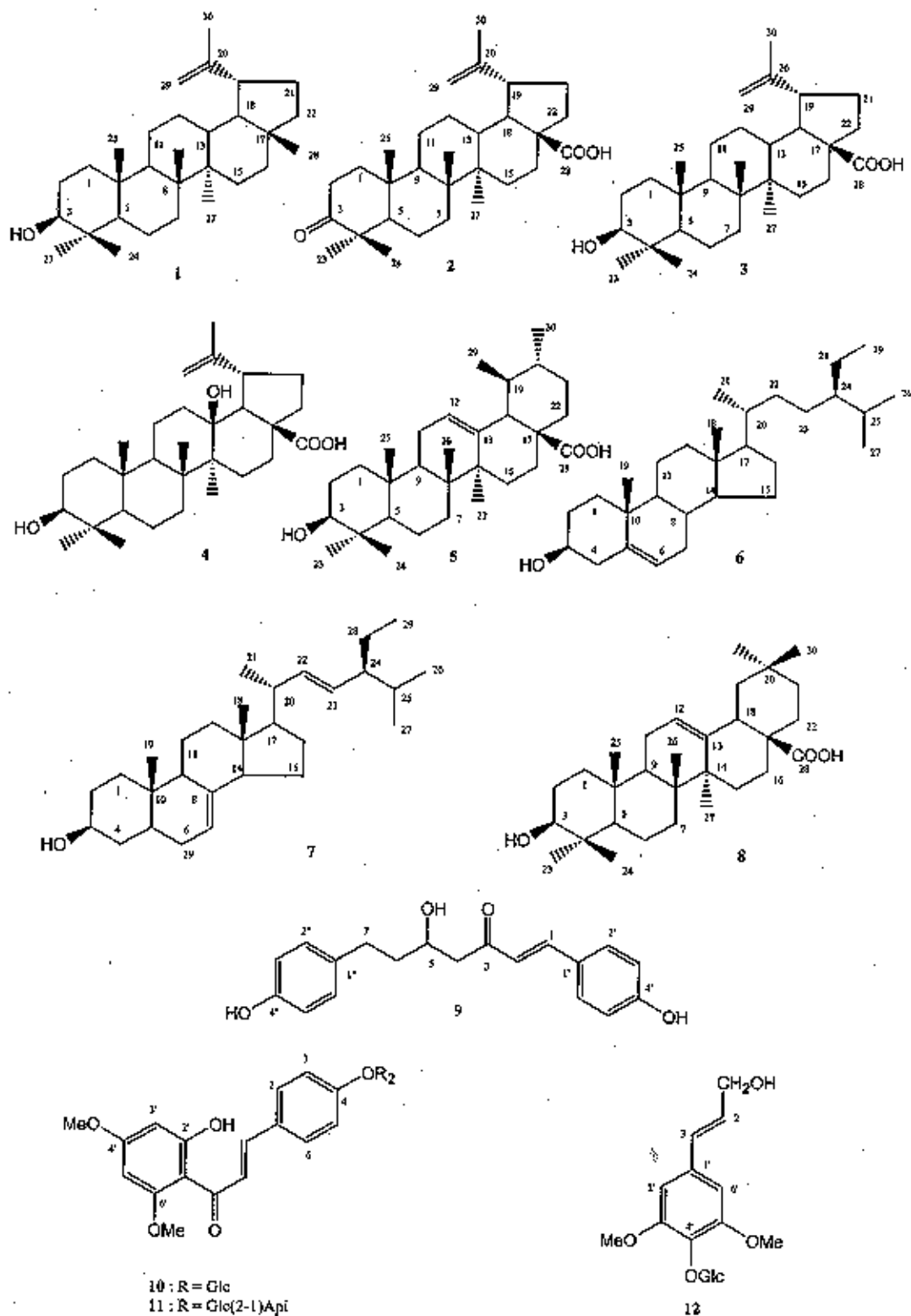


Fig. 1—Structures of isolated compounds 1~12.

(12), $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD) : 1.70 (1H, m), 2.54 (1H, m), 2.63 (1H, m), 2.69 (1H, dd, $J=4.4, 15.2$ Hz), 2.80 (1H, dd, $J=8.0, 15.2$ Hz), 4.03 (1H, m), 6.60 (1H, d, $J=16.5$ Hz), 6.63 (2H, d, $J=8.5$ Hz), 6.75 (2H, d, $J=8.5$ Hz), 6.96 (2H, d, $J=8.5$ Hz), 7.43 (2H, d, $J=8.5$ Hz), 7.50 (1H, d, $J=16.5$ Hz), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD) : 31.3 (C-7), 39.8 (C-6), 48.8 (C-5), 68.1 (C-5), 115.4 (C-3', 5'), 116.2 (C-3', 5'), 123.8 (C-2), 126.5 (C-1'), 129.6 (C-2', 6'), 130.9 (C-2'', 6''), 133.4 (C-1''), 144.8 (C-1), 155.7 (C-4''), 160.9 (C-4)

화합물 12 - colorless needles, EI-MS m/z (rel. int.) : 372 (M^+ , 10), $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD) : 3.86, 3.85 (each 3H, each s, $2 \times \text{CH}_3$), 4.22 (2H, d, $J=5.5$ Hz), 6.34 (1H, dt, $J=5.5, 16.0$ Hz), 6.53 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 6.75 (2H, d, $J=4.0$ Hz), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOD) : 56.8, 56.8, 61.2, 61.5, 70.0, 74.5, 76.7, 78.1, 102.4, 104.8, 104.8, 128.4, 130.2, 132.7, 134.0, 152.5, 152.6

실험결과 및 고찰

화합물 1은 mp. 210°C 인 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak : m/z 426), $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ data를 통해 이 화합물의 분자식은 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ 으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 6으로 생각할 수 있으며 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 olefine 위치에 2개 (8151.6, 110.0)의 signal이 관찰되므로 나머지는 환으로 생각할 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 보면 80.77~1.69 ppm 지역에서 7개의 methyl group을 관찰할 수 있었는데 저자장쪽인 81.69에서 methyl group이 관찰되는 것을 보아 isopropenyl group이 결합되어 있음을 추정하였고 83.18 (1H, m)에서 oxygenated carbon의 proton peak가 나타나는 것을 관찰하였으며, 84.56 and 4.69 (each 1H, s)에서 terminal methylene group의 vinylic proton들을 관찰할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 총 30개의 carbon peak가 보였고, 79.6ppm에서 oxygenated carbon인 C-3의 signal을 관찰할 수 있었으며, 151.6 ppm과 110.0 ppm에서 olefine의 signal을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 1은 triterpene중에서 lupane type의 화합물인 lupeol (β -hydroxy-lup-20(29)-ene)로서 추정할 수 있었고, 기준 문헌⁷⁾과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 2는 mp. 258°C 인 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak : m/z 454), $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ data를 통해 이 화합물의 분자식은 $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$ 으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 8로 생각할 수 있으며 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 olefine 위치에 2개 (8150.9, 110.4)의 signal과 1개의 acid signal (8182.1, -COOH), 8218.7에서 ketone의 signal이 관찰되므로 나머지는 환으로 생각할 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 보면 80.83~1.69 ppm 지역에서 6개의 methyl group을 관찰할 수 있었는데 저자장쪽인 81.69에서 methyl group이 관찰되는 것을 보아 isopropenyl group이 결합되어 있음을 추정하였고 84.61, 4.74 (each 1H, brs)에서 terminal methylene group의 vinylic proton들을 관찰할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 총 30개의 carbon peak가 보였고, 150.9 ppm과 110.4 ppm에서 olefine의 signal과 182.1 ppm에서 acid의 signal을 볼 수 있었으며, 218.7 ppm에서 ketone의 carbon peak를 관찰할 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 2는 triterpene중에서 lupane type의 화합물인 betulonic acid (3-oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid)로서 추정할 수 있었고, 기준 문헌⁸⁾과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 3은 mp. 282°C 인 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak : m/z 456), $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ data를 통해 이 화합물의 분자식은 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ 으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 7으로 생각할 수 있으며 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 olefine 위치에 2개 (8152.1, 110.6)의 signal과 1개의 acid signal (8179.6, -COOH)이 관찰되므로 나머지는 환으로 생각할 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 보면 80.83~1.80 ppm 지역에서 6개의 methyl group을 관찰할 수 있었는데 저자장쪽인 81.80에서 methyl group이 관찰되는 것을 보아 isopropenyl group이 결합되어 있음을 추정하였고 83.55 (1H, m)에서 oxygenated carbon의 proton peak가 나타나는 것을 관찰하였으며, 84.94 (1H, d, $J=2.0$ Hz) and 4.77 (1H, s)에서 terminal methylene group의 vinylic proton들을 관찰할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 총 30개의 carbon peak가 보였고, 80.5 ppm에서 oxygenated carbon인 C-3의 signal을 관찰할 수 있었으며, 152.1 ppm과 110.6 ppm에서 olefine의 signal과 179.6 ppm에서 acid의 signal을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 3은 triterpene

중에서 lupane type의 화합물인 betulinic acid (3 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid)로서 추정할 수 있었고, 기존 문헌⁹과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 4는 mp. 290°C인 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak: m/z 472), ¹H-NMR, ¹³C-NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 C₃₀H₄₈O₄으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 7로 생각할 수 있으며 ¹³C-NMR spectrum에서 olefine 위치에 2개 (δ151.9, 110.1)의 signal과 1개의 acid signal (δ179.8, -COOH)이 관찰되므로 나머지는 환으로 생각할 수 있다. ¹H-NMR spectrum에서 보던 80.98~1.82 ppm 지역에서 6개의 methyl group을 관찰할 수 있었는데 저자장쪽인 δ1.82에서 methyl group이 관찰되는 것을 보아 isopropenyl group이 결합되어 있음을 추정하였고 83.10, 3.93 (1H, m)에서 oxygenated carbon의 proton peak가 나타나는 것을 관찰하였으며, δ4.84 및 4.73 (each 1H, brs)에서 terminal methylene group의 vinylic proton들을 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR에서는 총 30개의 carbon peak가 보였고, 79.6 ppm과 80.8 ppm에서 oxygenated carbon signal을 관찰할 수 있었으며, 151.9 ppm과 110.1 ppm에서 olefine의 signal과 179.8 ppm에서 acid의 signal을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 4는 triterpene중에서 lupane type의 화합물인 terminic acid (3 β , 13 β -dihydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid)로서 추정할 수 있었고, 기존 문헌¹⁰과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 5는 mp. 280°C인 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak: m/z 456), ¹H-NMR, ¹³C-NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 C₃₀H₄₈O₃으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 7으로 생각할 수 있으며 ¹³C-NMR spectrum에서 olefine 위치에 2개 (δ126.3, 138.4)의 signal과 1개의 acid signal (δ176.5, -COOH)이 관찰되므로 나머지는 환으로 생각할 수 있다. ¹H-NMR data에서 보던 80.91~1.28 ppm 지역에서 7개의 methyl group을 관찰할 수 있었는데, 이중 0.97과 1.02 ppm에서 doublet (each 3H, d, J=6.5 Hz)이 관찰되어서 secondary methyl group임을 추정할 수 있었다. 또한 3.48 ppm에서 oxygenated carbon의 proton peak가 doublet of doublets (J=6.0, 9.5 Hz)으로 나타나는 것을 보아 3 β -OH임을 추정하였으며,

85.52 (1H, t, J=3.5 Hz)에서 olefinic proton peak가 나타나는 것으로 이 화합물은 ring안에 하나의 이중결합을 가지는 구조임을 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR에서는 총 30개의 carbon peak가 보였고, 79.4 ppm에서 oxygenated carbon인 C-3의 signal을 관찰할 수 있었으며, 126.3 ppm과 138.4 ppm에서 C-12, C-13의 signal과 176.5 ppm에서 acid의 signal을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 5는 triterpene계통인 ursolic acid (3 β -hydroxy-urs-12-en-28-oic acid)로서 추정할 수 있었고, 기존 문헌^{11,12}과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 6 및 7은 각각 mp. 140°C 및 168°C인 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak: m/z 414 및 412), ¹H-NMR, ¹³C-NMR data를 통해 화합물 6 과 7은 천연에 널리 존재하는 phytosterol인 β -sitosterol 및 α -spinasterol로 추정하였으며 기존 문헌^{13,14}과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 8은 mp. 197°C인 백색 결정상이며, EI-MS (molecular ion peak: m/z 456), ¹H-NMR, ¹³C-NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 C₃₀H₄₈O₃으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 7으로 생각할 수 있으며 ¹³C-NMR spectrum에서 olefine 위치에 2개 (δ123.3, 144.3)의 signal과 1개의 acid signal (δ184.3, -COOH)이 관찰되므로 5자환의 triterpene으로 생각할 수 있다. ¹H-NMR data에서 보던 80.91~1.30 ppm 지역에서 7개의 methyl group을 관찰할 수 있었고, 3.22 ppm에서 oxygenated carbon의 proton peak가 doublet of doublets (J=4.0, 9.5 Hz)으로 나타나는 것을 보아 3 β -OH임을 추정하였으며, 85.28 (1H, m)에서 olefinic proton peak가 나타나는 것으로 이 화합물은 ring안에 하나의 이중결합을 가지는 구조임을 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR에서는 총 30개의 carbon peak가 보였고, 79.7 ppm에서 oxygenated carbon인 C-3의 signal을 관찰할 수 있었으며, 123.3 ppm 과 144.3 ppm에서 C-12, C-13의 signal과 184.3 ppm에서 acid의 signal을 볼 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 8은 triterpene계통인 oleanolic acid (3 β -hydroxy-olean-12-en-28-oic acid)로서 추정할 수 있었고, 기존 문헌^{13,15}과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 9는 백색 분말상이며, EI-MS (molecular ion peak: m/z 312), ¹H-NMR, ¹³C-NMR data를 통

해 이 화합물의 분자식은 $C_{19}H_{20}O_4$ 으로 추정하였다. 이로써 불포화도는 10으로 생각할 수 있으며 ^{13}C -NMR spectrum에서 olefine 위치에 14개 (δ 115.4~160.9)의 signal과 δ 201.2의 ketone signal이 관찰되었다. 1H -NMR data에서 보면 3.22 ppm에서 oxygenated carbon의 proton peak를 관찰할 수 있으며, δ 6.63, 6.75, 6.96, 7.43 (each 2H, d, $J=8.5$ Hz)에서 aromatic의 이중결합 peak와 δ 6.60, 7.50 (each 1H, d, $J=16.5$ Hz)에서 trans위치의 linear 이중결합 proton peak를 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR에서는 총 19개의 carbon peak가 보였고 68.1 ppm에서 oxygenated carbon의 signal을 관찰할 수 있었으며 δ 115.4~160.9에서는 aromatic의 이중결합 signal을 관찰할 수 있었는데 특히 δ 155.7과 160.9의 peak가 저자장쪽으로 이동한 것으로 보아 C-4와 4'는 oxygenated carbon임을 추정할 수 있었다. 또한 δ 201.2에서 ketone의 존재를 추정할 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 9는 5-hydroxy-1-(4'-hydroxyphenyl)-7-(4''-hydroxyphenyl)-hepta-1-en-3-one으로 추정할 수 있었고, 기존 문헌¹⁶⁾과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 10 및 11은 황색 분말상의 flavonoid 계통으로 화합물들의 이화학적 성상 및 기기분석 자료를 통하여 그 구조를 각각 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxy-chalcone-4-O-glucoside 및 2'-hydroxy-4',6'-dimethoxy-chalcone-4-O-[apiosyl(1 \rightarrow 2)]glucoside로 추정하였으며, 이는 상기생에서 기존에 분리 보고된 화합물로서 기존 문헌²⁾과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

화합물 12는 부색 결정상이며, EI-MS (molecular ion peak: m/z 372), 1H -NMR, ^{13}C -NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 $C_{17}H_{24}O_9$ 으로 추정하였다. 1H -NMR data에서 보면 δ 4.87 (d, $J=7.5$ Hz)에서 당의 anomeric proton을 볼 수 있었으며 또한 coupling constant를 보아 β -form인 것을 추정하였다.¹⁷⁾ 또한 δ 3.85, 3.86 (each 3H, each s)에서 methoxy기의 proton peak를 관찰할 수 있으며, δ 6.75 (2H, d, $J=4.0$ Hz)에서 aromatic의 이중결합 proton peak를, δ 6.34 (1H, dt, $J=5.5, 16.0$ Hz), 6.53 (1H, d, $J=16.0$ Hz)에서 linear 이중결합 proton peak를 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR에서는 총 17개의 carbon peak가 보였고 56.8 ppm에서 2개의 methoxy기 signal을 관찰할 수 있었으며 8개의 이중결합 signal을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과를 바탕으로 화합물 12는

phenolic glycoside인 syringin [3-(4'-glycosyl-3',5'-dimethoxyphenyl)-2-propenol]으로 추정할 수 있었고, 기존 문헌²⁾과 비교한 결과 서로 일치하여 확인, 동정하였다.

이상의 12종 화합물들을 5종의 암세포주에 대하여 세포독성 활성실험을 실시하여 본 결과 2종의 triterpene인 betulonic acid와 betulinic acid에서 다음과 같은 활성결과를 얻을 수 있었다. 화합물 2에서는 각각의 암세포주에 대하여 ED₅₀ 값이 1.02 (HCT15), 1.47 (A549), 1.71 (XF498), 2.98 (SK-OV-3) 및 3.41 μ g/ml (SK-MEL-2)으로 나타났으며, 화합물 3에서는 0.97 (A549), 1.10 (HCT15), 1.24 (XF498), 1.53 (SK-OV-3) 및 2.68 μ g/ml (SK-MEL-2)과 같은 활성결과가 나왔다. 화합물 2와 3 이외의 다른 10종의 화합물들은 ED₅₀값이 10 μ g/ml 이상으로 5종의 암세포주에 대한 세포독성활성이 미약함을 알 수 있었다.

문 헌

- 1) 배기환, 한국의 약용식물, 교학사, 서울 p.79 (2000).
- 2) Fukunaga, T., Kajikawa, L., Nishiya, K., Watanabe, Y., Takeya, K.: Studies on the constituents of the European mistletoe, *Viscum album* L. *Chem. Pharm. Bull.* 35, 3292 (1987).
- 3) Lee, R. T., Gabius, H. J., Lee, Y. C.: Ligand binding characteristics of the major mistletoe lectin. *J. Biol. Chem.* 267, 2372 (1992).
- 4) Jordan, E., and Wagner, H.: Structures and properties of polysaccharides from *Viscum album*. *Oncology* 43(Suppl 1), 8 (1986).
- 5) Khwajawa, T. A., Dias, C. B. and Pentecost, S.: Recent studies on the anticancer activities of mistletoe (*Viscum album*) and its alkaloids. *Oncology* 43(Suppl 1), 42 (1986).
- 6) Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S., & Boyd, M. R.: New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 82, 1107 (1990).
- 7) Kircher, H. W.: Triterpenes in *Organ pipe* cactus. *Phytochemistry* 19, 2707 (1980).
- 8) Gonzalez, A. G., Amaro, J., Fraga, B. M., Luis, J.: 3-Oxo-6 α -hydroxyvolcan-18-en-oic acid from *Orthopterygium huancayo*. *Phytochemistry* 22, 1828 (1983).

- 9) Kojima, H., Tominaga, H., Sato, S., Ogura, H. : Pentacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* **26**, 1107 (1987).
- 10) Anjaneyulu, A. S. R. and Rama Prasad, A. V. : Structure of terminic acid, a dihydroxytriterpene carboxylic acid from *Terminalia arjuna*. *Phytochemistry* **22**, 993 (1983).
- 11) Ahmad, V. U., Rahman, A. U. : Handbook of natural products data; volume 2 Pentacyclic triterpenoids. Elsevier Science p. 770 (1994).
- 12) Mahato, S. B., Kundu, A. P. : ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. *Phytochemistry* **37**, 1517 (1994).
- 13) Furuya, T., Orihara, Y., Hayashi, C. : Triterpenoids from *Eucalyptus perimicna* cultured cells. : *Phytochemistry* **26**, 715 (1987).
- 14) Goad, L. J. : Analysis of sterols. Blackie academic & professional p. 388 (1997).
- 15) Ahmad, V. U., Rahman, A. U. : Handbook of natural products data; volume 2 Pentacyclic triterpenoids. Elsevier Science p. 111 (1994).
- 16) Ngo, K. S., Brown, G. D. : Stilbenes, monoterpenes, diarylheptanoids, labdanes and chalcones from *Alpinia katsumadai*. *Phytochemistry* **47**, 1117 (1987).
- 17) Agrawal, Rk. : NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycoside. *Phytochemistry* **31**, 3307 (1992).