

뿌리뱅이의 세포독성 트라이테르펜 하이드로퍼옥사이드 성분

이원빈 · 권학철 · 이재훈 · 최상운* · 이강노[#]

성균관대학교 약학대학 천연물약품화학 연구실, *한국화학연구소

(Received January 16, 2002; Revised February 14, 2002)

A new Cytotoxic Triterpene Hydroperoxide from the Aerial Part of *Youngia japonica*

Won Bin Lee, Hak Cheol Kwon, Jae Hun Yi, Sang Un Choi* and Kang Ro Lee[#]

Natural Products Laboratory, College of Pharmacy, SungKyunKwan University, Suwon 440-746, Korea

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

Abstract — A new cytotoxic triterpene hydroperoxide (**3**) was isolated from the methylene chloride extract of the aerial part of *Youngia japonica* together with four known triterpenes (**1**, **2**, **4** and **5**). Their structures were identified by means of physico-chemical and spectral data to be β -amyrin acetate (**1**), taraxasterol (**2**), 21α -hydroperoxy-taraxasterol (**3**), oleanolic acid (**4**) and ursolic acid (**5**). Compounds **3** and **5** showed moderate cytotoxicity against five tumor cell lines.

Keywords □ *Youngia japonica*, compositae, triterpene, 21α -Hydroperoxy-taraxasterol, cytotoxicity

뿌리뱅이 (*Youngia japonica*)는 길가나 밭둑에서 흔하게 볼 수 있는 국화과 (Compositae)의 한두해살이 풀로서, 전초와 뿌리를 황암채 (黃巖菜)라 하여 민간이나 한방에서는 감기로 인한 열을 내리고 유선염, 결막염, 종기, 오토감염증, 백대하 및 풍습관절염의 치료에 사용하여 왔다.^{1,2)}

뿌리뱅이에 관한 성분연구는 sesquiterpene, triterpene, saponin 및 alkaloid 등이 보고된 바가 있다.³⁻⁵⁾

본 연구실에서는 수년간 국내 자생식물로부터 생리활성 성분을 연구하여 오고 있으며, 특히 국화과 식물의 활성성분을 관심 있게 연구하여 오고 있다.^{6,7)} 국내자생 국화과 식물에 대한 계속적인 성분 연구의 일환으로 뿌리뱅이 전초의 methylene chloride 추출물로부터 1종의 새로운 triterpene hydroperoxide와 4종의 알려진 triterpene을 분리하여, 이화학적 성상 및 기기분석적 방법으로 구조를 규명하고, 분리된 성분에 대하여 5종의 암세포주에 대하여 세포독성을 연구하였다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용된 뿌리뱅이 (*Youngia japonica*)는 1999년 6월에 성균관대학교 인근 야산에서 자생하는 것을 채집하여 정확히 감정한 후 사용하였고, 표본은 성균관대학교 약학대학 표본실 (표본번호 SKK-99-007)에 보관되어 있다.

기기 및 시약

용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 ¹H- 및 ¹³C-NMR은 Varian VXR-500 및 Bruker AMX 500 spectrometer로 측정하였다. EI-MS spectrum은 JMS700 (JEOL, JAPAN)을 사용하였고, ESI-MS spectrum은 Quattro II mass spectrometer (Micro Mass, UK)로 측정하였다. Column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60 (70-230 and 230-400 mesh, ASTM Art. 7734 and 9385, Merck)과 Lichroprep RP-18 Lobar[®]-A (Merck, 40-63 μ m)를 사용하였고, molecular sieve column chromatography용 packing 물질은 Sephadex LH-20 (Pharmacia)을 사용하였으며, TLC plate는 Kiesel gel 60F₂₅₄ precoated plate (Art. 5554, Merck)를 사용하

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 031-290-7710 (팩스) 031-290-8800
(E-mail) krlee@yurim.skku.ac.kr

였다. Preparative HPLC는 refractive index detector와 UV detector가 부착된 Knauer preparative HPLC model에 Econosil[®] silica 10 u (10×250 mm) column을 장착하여 사용하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 1급시약을, 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

추출 및 분리

상온에서 음건세절한 뿌리방이의 지상부 5 kg을 상온에서 methylene chloride (CH₂Cl₂)로 3회 추출한 후 감압 농축하여 methylene chloride 추출물 50 g을 얻었다. CH₂Cl₂ 추출물 중 28 g을 CHCl₃-MeOH (30:1에서 0:1까지의 농도구배)의 유출 용매로 silica gel(300 g) column chromatography를 실시하여 4개의 분획(F1~F4)으로 나누었다. F1분획 (17 g)을 CHCl₃-n-hexane (2:1)~CHCl₃-MeOH (15:1) 유출용매로 silica gel (250 g) column chromatography를 실시하여 5개의 소분획(F11~F15)으로 나누었다. F12분획 (360 mg)을 n-hexane-EtOAc (60:1)을 유출용매로 하는 silica gel (36 g) column chromatography와 n-hexane-EtOAc (99:1)을 유출용매로 하는 prep-HPLC (Econosil[®] Silica 10 u, 10×250 mm)를 실시하여 화합물 1 (10 mg)을 분리하였다. F14분획 (7.5 g)을 CH₂Cl₂-acetone (30:1)을 유출용매로 하는 silica gel (300 g) column chromatography를 실시하여 7개의 소분획 (F141~F147)으로 나누었다. F143(3 g)분획을 다시 n-hexane-EtOAc (5:1)을 유출용매로 하는 silica gel (120 g) column chromatography를 실시하여 5개의 소분획 (F1431~F1435)으로 나누었다. F1432 (110 mg)분획을 n-hexane-EtOAc (9:1)을 유출용매로 하는 prep-HPLC (Econosil[®] Silica 10 u, 10×250 mm)를 실시하여 화합물 2 (15 mg)을 분리하였다. F1435(36 mg)분획은 97% MeOH을 유출용매로 하는 RP Lobar[®]-A column chromatography를 실시한 후 97% MeOH로 재결정하여 화합물 3 (9 mg)을 분리하였다. F147 (300 mg)분획에 대해 n-hexane-EtOAc (2:1)을 유출용매로 하는 silica gel (45 g) column chromatography를 실시하여 4개의 소분획 (F1471~F1474)으로 나누는 후 F1471 (30 mg)분획은 n-hexane-EtOAc (4:1)을 유출용매로 하는 prep-HPLC (Econosil[®] Silica 10 u, 10×250 mm)를 실시하여 화합물 4 (8 mg)을 분리하였다. F1473 (20 mg)분획은 n-hexane-EtOAc (3:1)용매로 재결정하여 화합물 5 (9 mg)을 얻었다.

화합물 1 – white powder, mp. 241°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 468 ([M]⁺, 7), 453 (7), 408 ([M-CH₃COOH]⁺, 4), 218 (100), 203 (63), ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) : δ 5.19 (1H, t, J=3.5 Hz, H-12), 4.50 (1H, br.dd, J=8.5, 16.4 Hz, H-3α), 2.06 (3H, s, COCH₃-3), 1.14 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-26), 0.95 (3H, s, H-25), 0.88 (9H, s, H-27, H-29 and H-30), 0.87 (3H, s, H-23), 0.84 (3H, s, H-28), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : Table I

Table I – ¹³C-NMR data of Compounds 1~5 (125 MHz, CDCl₃)

Position	1	2	3	4	5*
1	38.3	38.8	39.5	38.5	39.9
2	23.6	27.4	28.2	27.2	29.0
3	81.0	79.0	79.7	79.0	78.9
4	37.7	38.9	39.6	38.8	40.2
5	55.3	55.4	56.0	55.3	56.7
6	18.3	18.3	19.0	18.3	19.6
7	32.6	34.1	34.7	32.7	34.4
8	39.8	41.0	41.6	39.3	40.8
9	47.6	50.5	51.1	47.7	48.9
10	36.9	37.2	37.8	37.1	38.3
11	23.5	21.5	22.1	23.0	24.5
12	121.7	25.6	26.9	122.7	126.4
13	145.2	38.9	39.8	143.6	140.1
14	41.7	42.1	42.8	41.7	43.3
15	28.4	26.7	27.1	27.7	29.5
16	26.2	39.2	38.4 ^a	23.4	25.8
17	32.5	34.5	34.6	46.5	48.9
18	47.3	48.7	48.5	41.1	54.4
19	46.8	38.3	38.7 ^b	45.9	40.3
20	31.1	154.6	150.6	30.7	40.2
21	34.8	25.5	85.8	33.8	31.9
22	37.2	39.4	44.7	32.4	38.1
23	28.0	28.0	28.7	28.1	29.6
24	16.7	15.4	16.1	15.5	17.4
25	15.6	15.9	17.0	15.3	16.5
26	16.8	16.3	16.6	17.1	18.3
27	26.0	14.8	15.4	25.9	24.7
28	27.0	26.2	19.4	182.1	180.8
29	33.3	19.5	28.1	33.0	18.3
30	23.7	107.1	118.5	23.6	22.2
CO	171.0				
COCH ₃	21.3				

*125 MHz, C₅D₅N

^{a,b}Assignment may be interchanged.

화합물 2 – white powder, mp. 225°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 426 ([M]⁺, 30), 411 (9), 408 (8), 229 (14), 218 (52), 207 (57), 189 (100), ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) : δ 4.62 (2H, dt, J=8.3, 2.2 Hz, H-30), 3.21 (1H, br.d, J=10.8 Hz, H-3), 1.03 (3H, d, J=6.8 Hz, H-29), 1.03 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 0.86 (6H, s, H-25 and H-28), 0.78 (3H, s, H-24), ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) : Table I

화합물 3 – white powder, mp. 167°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 442 ([M-O]⁺, 4), 424 (28), 406 (31), 379 (21), 363 (31), 229 (13), 207 (15), 203 (43), 189 (32), 187 (40), 173 (34), 134 (75), 121 (100), ESI-MS m/z : 457 [M-H]⁻, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) : δ 7.67 (1H, br.s, OOH-21), 5.13 (2H, m, H-30), 4.58 (1H, dd, J=10.0, 4.1 Hz, H-21), 3.21 (1H, dd, J=11.4, 5.0 Hz, H-3β), 2.18 (1H, br.t, J=7.3 Hz, H-19), 1.94 (1H, dd, J=14.7, 10.0 Hz, H-

22 α), 1.17 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-29), 1.09(1H, dd, $J=11.0, 7.3$ Hz, H-18), 1.02 (3H, s, H-26), 0.98 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 0.85 (3H, s, H-25), 0.81 (3H, s, H-28), 0.77 (3H, s, H-24), ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) : Table I

화합물 4 – white powder, mp. 198°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 456 ($[\text{M}]^+$, 2), 248 (100), 207 (19), 204(20), 203(85), 189(34), ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) : δ 5.28 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12), 3.26 (1H, dd, $J=10.6, 4.5$ Hz, H-3), 2.83 (1H, dd, $J=13.8, 4.3$ Hz, H-18), 1.15 (3H, s, H-29), 1.00, 0.94, 0.92, 0.91, 0.79, 0.77 (each 3H, s, CH_3), ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) : Table I

화합물 5 – white powder, mp. 281°C, EI-MS m/z (rel. int.) : 456 ($[\text{M}]^+$, 2), 248 (100), 207 (30), 204 (12), 203 (48), 189 (19), ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) : δ 5.48 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12), 3.44 (1H, dd, $J=10.0, 5.5$ Hz, H-3), 2.63 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-18), 1.23 (3H, s, H-23), 1.21 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-26), 1.01 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-30), 0.93 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-29), 0.87 (3H, s, H-25) ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) : Table I

세포독성실험 – 세포독성 실험은 Sulforhodamin-B (SRB) Bioassay 방법⁸⁾을 응용하여 한국화학연구소에서 수행하였다. 실험에 사용한 암세포주들은 A549 (non small cell lung carcinoma), SK-OV-3 (ademoncarcinoma, ovary malignant ascites), SK-MEL-2 (malignant melanoma, metastasis to skin of thigh), XF-

498(central nerve system tumor) 및 HCT-15(conilon ademo-carcinoma) 등이다.

결과 및 고찰

화합물 1은 mp. 241°C인 흰색 분말상이고, EIMS 스펙트럼 (M^+ , 468) 및 NMR 스펙트럼 자료로부터 분자식을 $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ 로 추정하였다. EIMS 스펙트럼에서 base peak가 m/z 218임을 관찰할 수 있었는데 이는 C-12와 C-13 double bond를 가지는 amyryn type triterpene의 전형적인 base peak임을 알 수 있었다.²⁰⁾ ^1H -NMR 스펙트럼은 전형적인 triterpene의 형태를 나타내었고 8개의 singlet methyl signal이 나타나는 것으로 보아 이 화합물이 β -amyryn type의 triterpene이라는 것을 추정하였다. ^1H -NMR 스펙트럼 자료에서 δ 1.14, 0.97, 0.95, 0.88 ($\times 3$), 0.87, 0.84의 singlet peak에서 8개의 methyl group과 δ 2.06 (3H, s)에서 acetyl group을 알 수 있었다. ^1H -NMR 자료의 δ 5.19 (1H, t, $J=3.5$ Hz)에서 olefinic proton signal 및 δ 4.50 (1H, brdd, $J=16.4, 8.5$ Hz)에서 acetoxy group이 치환된 carbinol proton signal을 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR 스펙트럼 자료로부터 δ 121.7과 δ 145.2에서 이중결합을 나타내는 peak와 δ 171.0과 δ 21.3에서 acetoxy group peak 및 δ 81.0에서 acetoxy group이 붙어 있는 carbon peak를 포함하여 총 32개의 signal들을 관찰할 수 있었다. 이상의 기기분석 결과 및 문헌과의

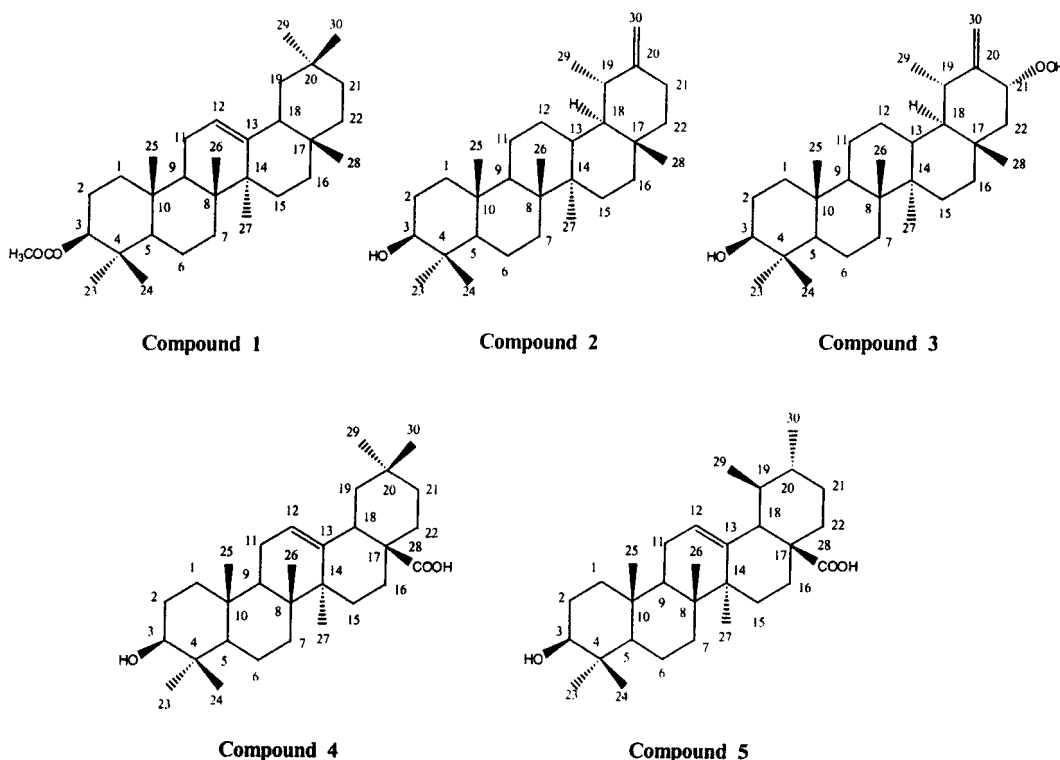


Fig. 1 – The Structures of Compounds 1~5 from *Youngia japonica*

비교로 이 물질의 구조를 β -amyrin acetate (β -acetoxyolean-12-ene)로 결정하였다.^{9,10)}

화합물 2는 mp. 225°C인 흰색 분말상이고, EIMS 스펙트럼 (M^+ , 426) 및 NMR 스펙트럼 자료로부터 분자식을 $C_{30}H_{50}O$ 로 추정하였다. 1H -NMR 스펙트럼 자료에서 δ 1.03, 0.98, 0.94, 0.86, 0.86, 0.78의 singlet peak와 δ 1.03의 doublet peak에서 7개의 methyl group을 알 수 있었다. 1H -NMR 자료의 δ 4.62 (2H, dt, $J=8.3, 2.2$ Hz)에서 exo-methylene proton signal 및 δ 3.21 (1H, br.d, $J=10.8$)에서 carbinol proton signal을 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR 스펙트럼 자료로부터 δ 154.64과 δ 107.1에서 이중결합을 나타내는 peak와 δ 79.0에서 carbinol carbon peak를 관찰할 수 있었다. C-12 위치에 이중결합이 없고 cyclic exo-methylene group이 존재하며 δ 1.03의 doublet methyl signal의 존재를 통하여 화합물 2를 taraxasterol로 추정하였고 문헌조사 결과 taraxasterol의 NMR 자료와 화합물 2의 자료가 정확히 일치하였다. 이상의 기기분석 결과 및 문헌과의 비교로 이 물질의 구조를 taraxasterol (β -hydroxy-18 α H,19 α -urs-20(30)-ene)로 결정하였다.^{11,12)}

화합물 3는 mp. 167°C인 흰색 분말상이고, peroxide 발색시약에 양성을 나타내었다.¹³⁾ EIMS 스펙트럼 ($[M-O]^+$, 442), negative ESI 스펙트럼 ($[M-H]^-$, 457) 및 NMR 스펙트럼 자료로부터 분자식을 $C_{30}H_{50}O_3$ 로 추정하였다. 1H -NMR 스펙트럼 자료에서 δ 1.02, 0.98, 0.94, 0.85, 0.81, 0.77 ppm의 singlet peak와 1.17 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-29)의 peak에 의해서 7개의 methyl group을 알 수 있었다. 1H -NMR 자료의 δ 5.13에서 exo-methylene proton signal과 δ 3.21 (1H, dd, $J=11.4, 5.0$ Hz)에서 carbinol proton signal, δ 7.67 (1H, br.s)에서 hydroperoxy proton signal 및 δ 4.58 (1H, dd, $J=10.0, 4.1$ Hz, H-21)에서 hydroperoxy group이 위치한 proton signal을 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR 스펙트럼 자료로부터 δ 150.2과 δ 118.5에서 exo-methylene group peak와 δ 79.7에서 carbinol carbon peak를 관찰할 수 있었고, δ 85.8에서 hydroperoxy group이 붙어있는 carbon peak를 관찰할 수 있었다. 이상의 NMR 자료는 21 α -hydroxy-taraxasterol의 data¹⁴⁾와 매우 유사하였다. 주요한 차이점은 C-21의 chemical shift (δ 85.8)는 21 α -hydroxy-taraxasterol의 C-21 peak (δ 71.3)보다 14.5 ppm 저자장으로 shift하였고, C-22의 chemical shift (δ 44.7)는 4.2 ppm 고자장으로 shift하였다. 또한, C-20의 chemical shift (δ 150.6)는 21 α -hydroxy-taraxasterol의 C-20 peak (δ 156.7)보다 6.1 ppm 고자장으로 shift하였고, C-30의 chemical shift (δ 118.5)는 4.9 ppm 저자장으로 shift하였다. 이러한 사실로 hydroperoxy group은 C-21에 결합되었음을 추정하였고, HMBC spectrum data(Fig. 2)에서 H-30, H-19와 C-21의 correlation으로 hydroperoxy group의 위치를 확정하였다. 또한 hydroperoxy group의 입체구조는 10 Hz의

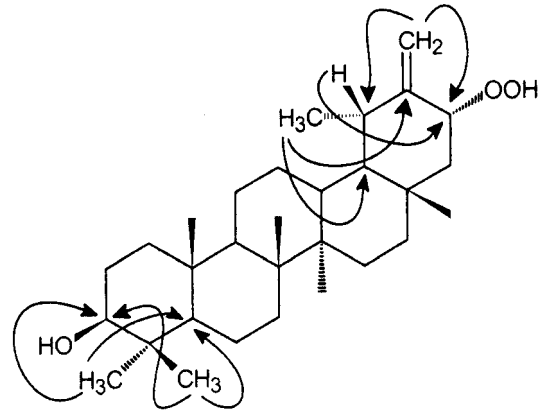


Fig. 2 – The HMBC Correlations of Compound 3.

$J_{21,22}$ 값을 통하여 H-21과 H-22는 diaxial configuration임을 추정하였고,¹⁵⁾ NOESY spectrum data에서 H-21과 H-28의 correlation이 관찰되어 hydroperoxy group이 α -equatorial form임을 확인하였다. 이상의 기기분석 결과 및 문헌과의 비교로¹⁴⁾ 이 물질의 구조를 21 α -hydroperoxy-taraxasterol (β -hydroxy-21 α -hydroperoxy-18 α H,19 α -urs-20(30)-ene)로 결정하였다. 이 물질은 천연에서 아직 보고된 바가 없는 물질이다.

화합물 4는 mp. 198°C인 흰색 분말상이고, EIMS 스펙트럼 (M^+ , 456) 및 NMR 스펙트럼 자료로부터 분자식을 $C_{30}H_{48}O_3$ 로 추정하였다. 또한 EIMS 스펙트럼에서 base peak가 m/z 248임을 관찰할 수 있었는데 이는 C-12와 C-13 double bond를 가지는 ursane 또는 oleanane type triterpene의 전형적인 base peak임을 알 수 있었다. 1H -NMR 스펙트럼은 전형적인 triterpene의 형태를 나타내었고 7개의 singlet methyl signal이 나타나는 것으로 보아 이 화합물이 oleanane type의 triterpene이라는 것을 추정하였다. 1H -NMR 스펙트럼 자료에서 δ 1.15, 1.00, 0.94, 0.92, 0.91, 0.79, 0.77의 singlet peak로 7개의 methyl group을 알 수 있었다. 1H -NMR 자료의 δ 5.28 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12)에서 olefinic proton signal 및 δ 2.83 (1H, dd, $J=13.4, 4.3$ Hz, H-18)의 methine proton signal, δ 3.26 (1H, dd, $J=10.6, 4.5$ Hz, H-3)에서 carbinol proton signal을 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR 스펙트럼 자료로부터 δ 122.7과 δ 143.6에서 이중결합을 나타내는 peak와 δ 182.1에서 carbonyl carbon peak 및 δ 79.0에서 carbinol carbon peak를 관찰할 수 있었다. 이상의 기기분석 결과 및 문헌과의 비교로 이 물질의 구조를 oleanolic acid (β -hydroxyolean-12-en-28-oic acid)로 결정하였다.^{16,17)}

화합물 5는 mp. 281°C인 흰색 분말상이고, EIMS 스펙트럼 (M^+ , 456) 및 NMR 스펙트럼 자료로부터 분자식 $C_{30}H_{48}O_3$ 를 추정하였다. 또한 EIMS 스펙트럼에서 화합물 4와 같이 m/z 248이 관찰되었고 6개의 singlet methyl signal과 2개의 doublet methyl signal으로 보아 이 화합물이 ursane type의 triterpene

Table II – Cytotoxicity of Compounds 1~5

Cancer cell line compounds	ED ₅₀ values*				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
1	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
2	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0	>10.0
3	3.74	3.40	2.53	3.66	3.34
4	5.86	11.40	>10.0	>10.0	>10.0
5	3.61	2.81	2.67	3.93	3.87
Doxorubicin	0.12	0.13	0.11	0.23	2.40

*ED₅₀ value of compound against each cancer cell line, which was defined as a concentration (μg/ml) that caused 50% inhibition of cell growth *in vitro*.

이라는 것을 추정하였다. ¹H-NMR 스펙트럼 자료에서 δ 1.23, 1.21, 1.04, 1.01, 0.87의 singlet peak와 δ 0.93, 0.87의 doublet peak로 7개의 methyl group을 알 수 있었다. ¹H-NMR 자료의 δ 5.48 (1H, t, J=3.5 Hz, H-12)에서 olefinic proton signal 및 δ 2.63 (1H, d, J=11.4 Hz, H-18)의 methine proton signal, δ 3.44 (1H, dd, J=10.0, 5.5 Hz, H-3)에서 carbinol proton signal을 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR 스펙트럼 data로부터 δ 126.4과 δ 140.1에서 이중결합을 나타내는 peak와 δ 180.8에서 carbonyl carbon peak 및 δ 79.0에서 carbinol carbon peak를 관찰할 수 있었다. 이상의 기기분석 결과 및 문헌과의 비교로 이 물질의 구조를 ursolic acid (β-hydroxyurs-12-en-28-oic acid)로 결정하였다.^{18,19)}

분리된 화합물에 대하여 5종의 암세포주를 이용한 세포독성 연구결과, 화합물 1 및 2는 10 μg/ml 이하에서는 활성을 나타내지 않았으나, 화합물 3 및 5의 경우는 ED₅₀값이 2.53~3.93 μg/ml로 비교적 우수한 세포독성을 나타냈다 (Table II).

문 헌

- 1) 배기환 : 한국의 약용식물, 교학사, p. 516 (2000).
- 2) 안덕균 : 한국본초도감, 교학사, p. 233 (1998).
- 3) 송주택, 정현배, 김병우, 진희성 : 식물대보감, 일흥, 서울 p. 364 (1989).
- 4) Miyase, T., Ueno, A., Noro, T., Kuroyanagi, M. and Fukushima, S. : Studies on Sesquiterpene Glycosides from *Crepis japonica* BENTH. *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4451 (1985).
- 5) Jang, D. S., Ha, T. J., Choi, S. U., Nam, S. H., Park, K. H. and Yang, M. S. : Isolation of isoamberboin and isolipidiol from wild plants of *Youngia japonica* (L.) DC. *Kor. J. Pharmacogn.*, **31**, 306 (2000).
- 6) Kwak, J. H., Jang, W. Y., Zee, O. P. and Lee, K. R. :

Artekeiskeanin A : A new coumarin-monoterpene ether from *Artemisia keiskeana*. *Planta Med.*, **63**, 389 (1997).

- 7) Kwon, H. C., Jung, C. M., Shin, C. G., Lee, J. K., Choi, S. U. and Lee, K. R. : A new caffeoyl quinic acid from *Aster scaber* and Its Inhibitory Activity against Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) Integrase. *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1796 (2000).
- 8) Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M. R. : New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, **82**, 1107 (1990)
- 9) Matsunaga, S., Tanaka, R. and Akagi, M. : Triterpenoids from *Euphorbia maculata*. *Phytochemistry*, **27**, 535 (1988).
- 10) Seo, S., Tomita, Y. and Tori, K. : Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignment of components of *Isodon japonicus* HARA tissue cultures. *Tetrahedron Lett.*, **7** (1975).
- 11) Tanaka, R. and Matsunaga, S. : Triterpene constituents from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry*, **27**, 3579 (1988).
- 12) Anjaneyulu, V., Ravi, K., Prasad, K. H. and Connolly, J. D. : Triterpenoids from *Mangifera indica*. *Phytochemistry*, **28**, 1471 (1989).
- 13) Lee, K. R. : Peroxide constituents in the natural product research. *Kor. J. Pharmacogn.*, **22**, 145 (1991).
- 14) Petrovic, S. D., Gorunovic, M. S., Wray, V., and Merfort, I. : A taraxasterol derivative and phenolic compounds from *Hieracium gymnocephalum*. *Phytochemistry*, **50**, 293 (1999).
- 15) Breitmaier, E. : Structure elucidation by NMR in organic chemistry, A practical guide. John Wiley & Sons, p. 45 (1993).
- 16) Maillard, M., Adewunmi, C. O. and Hostettman, K. : A triterpene glycoside from the fruits of *Tetrapleura tetraptera*. *Phytochemistry*, **31**, 1321 (1992).
- 17) Ikuta, A. and Itokawa, H. : Triterpenoids of *Akebia Quinata* callus tissue. *Phytochemistry*, **25**, 1625 (1986).
- 18) Numata, A., Yang, P., Takahashi, C., Fujiki, R., Nabae, M. and Fujita, E. : Cytotoxic triterpenes from a Chinese medicine, Goreishi. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 648 (1989).
- 19) Kriwacki, R. W., Pitner, T. P. : Current aspects of practical two-dimensional (2D) nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy : Application to structure elucidation, *Pharmaceutical Research*, **6**, 531 (1989).
- 20) Budzikiewicz, H., Wilson, J. M. and Djerassi, C. : Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. Pentacyclic triterpenes; *J. Am. Chem. Soc.*, **25**, 3688 (1963).