

측백엽의 Diterpenes 성분

성상현, 구경아, 임혜경, 이흠숙¹, 조정희², 김혜수², 김영중*

서울대학교 약학대학, ¹서울국립산업대학교 식품공학과, ²식품의약품안전청 생약제제과

Diterpenes of *Biota orientalis* Leaves

Sang Hyun Sung, Kyung Ah Koo, Hye Kyung Lim, Heum Sook Lee¹,
Jung Hee Cho², Hye Soo Kim² and Young Choong Kim*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

¹Department of Food Science & Technology, Seoul National Polytechnic University,
Seoul 139-743, Korea

²Natural Medicinal Products Division, Korea Food & Drug Administration,
Seoul 122-704, Korea

Abstract—Six minor diterpenes were isolated from *Biota orientalis* (Cupressaceae) leaves. On the basis of comparison with reported spectral data, they were identified as 7,15-isopimaradien-18-oic acid (isopimaric acid), 8(14),15-isopimaradien-18-oic acid (sandaracopimaric acid), 7,15-isopimaradien-3-ol, 7,15-isopimaradien-3,19-diol, 8(17),13-labdadien-16,15-olid-19-oic acid (demethylpinusolide), and 15-hydroxy-8(17),13-labdadien-19-oic acid (isocupric acid). They were first reported in the genus of *Biota*.

Key words—*Biota orientalis*: Cupressaceae: isopimarane diterpenes.

측백나무(*Biota orientalis* Endl, *Thuja orientalis* L., *Platyclusus orientalis* L.)는 측백나무(Cupressaceae)과에 속하는 상록 침엽 교목으로, 한국, 일본 및 중국에 자생하고 정원수 및 산울타리 용으로 쓰인다. 측백나무의 어린 가지와 잎은 양혈(涼血), 지혈(止血), 거풍습(擧風濕)의 효능이 있고 측백엽은 민간 및 한방에서 토혈(吐血), 비출혈(鼻出血), 장풍(腸風), 풍습비통(風濕鼻痛), 고혈압(高血壓) 등의 치료제로 사용되어 왔다.¹⁾

측백엽의 화학적 성분으로는 thujene, fenchone, pinene 및 caryophyllene 등의 정유 성분과 biotol, cedrene, cedrol 및 cuparene 등의 sesquiterpene²⁻⁴⁾이 보고되었다. 또한 pinusolide,

totarol 및 8 β -hydroxy-3-oxopimara-15-ene 등의 diterpene⁵⁾ 성분과 quercetin, quercitrin, myricetin, hinokiflavone 및 amentoflavone 등의 flavonoid⁶⁾ 성분 등도 보고된 바 있다. 한편 측백엽의 생리활성 연구를 통해 항암 성분으로 deoxypodophyllotoxine⁷⁾과 PAF-antagonist로 pinusolide⁸⁾ 등이 보고된 바 있다.

저자 등은 측백엽의 90% MeOH 분획으로 부터 미량 함유된 6종의 diterpenes을 처음으로 분리하고 그 화학구조를 밝혔기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

식물재료—측백엽은 1997년 6월, 경동시장에서 구입하여 식물학적 감정을 거친 후 확장증표본은 서울

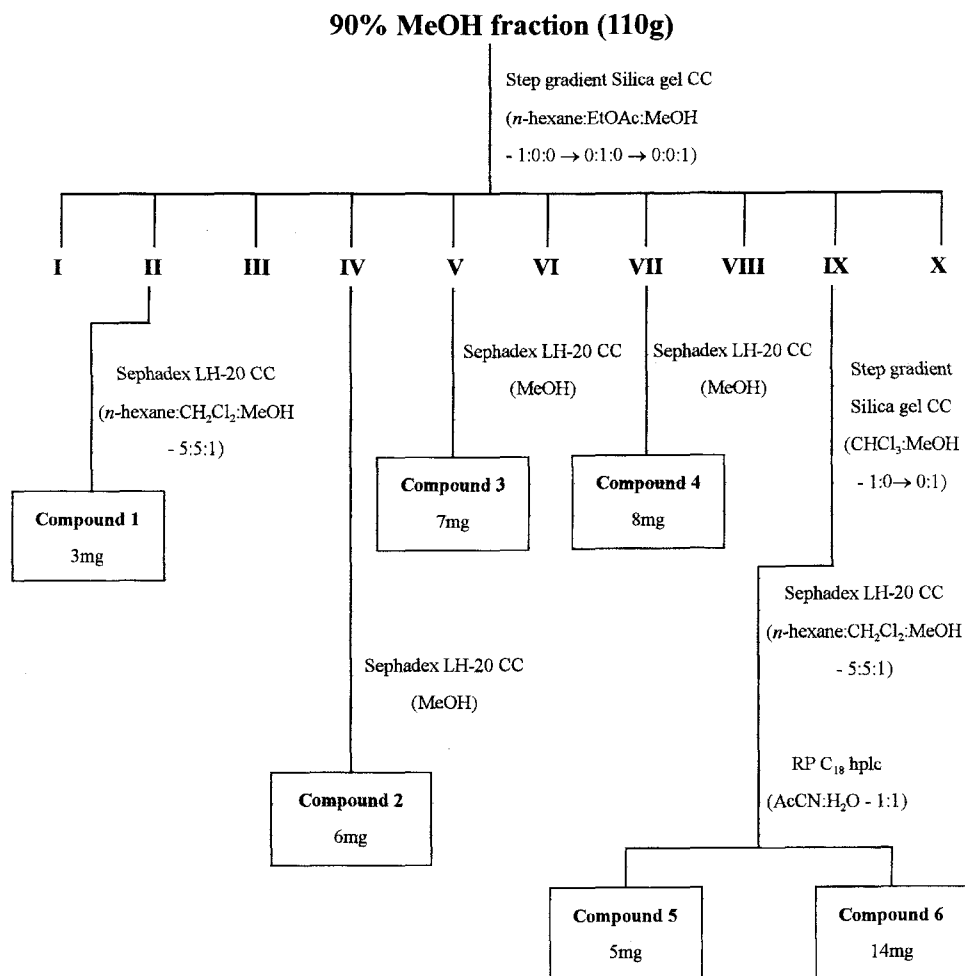
*교신저자 : Fax 02-888-2933

대학교 약학대학 생약표본실에 보관하였고 음건한 후 실험에 사용하였다.

시약 및 기기 - Column chromatography용으로는 Kieselgel 60(Merck Art. 9385), Sephadex[®] LH-20(Pharmacia)을, TLC plates는 precoated-Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck Art. 5715), RP-18(Merck Art. 15685)을 사용하였다. 식물재료의 추출과 column chromatography용 용매는 시약용(Duksan Chemical Co.)을 1차 증류하여 사용하였고, semi-preparative hplc용 용매는 hplc급 용매(EM Sciences)를 사용하였다. 용점은 Büchi 미량용점 측정장치를 사용하여 측정하였으며, 선광도는 JASCO DIP-1000를, UV는 Shimadzu UV-1601PC UV-VIS spectrophotometer를, IR은

Perkin Elmer 1710 spectrophotometer를 사용하여 측정하였다. NMR은 JEOL GSX 400 spectrometer와 JEOL LA 300 spectrometer를 사용하였으며, Mass는 VG Trio 2 spectrometer를 사용하여 측정하였다. Hplc는 Hitachi L-6200 pump와 Hitachi L-4000 UV detector를 사용하였다.

추출 및 분리 - 측백엽 9.0 kg을 80% MeOH로 3시간 동안 3회 초음파 추출한 후 감압 농축하여 MeOH ext.(830 g)을 얻었다. 이를 탈이온수에 현탁시킨 후 CH₂Cl₂로 분획한 후 감압 농축하여 CH₂Cl₂ 분획(400 g)을 얻은 후, 이를 90% MeOH과 *n*-hexane으로 분획하여 90% MeOH 분획(110 g)을 얻었다. 90% MeOH 분획을 Scheme 1과 같은 방법으로 compounds 1~6을 분리하였다.



Scheme 1. Isolation of compounds 1~6 from *Biota orientalis* leaves.

Compound 1 - $C_{20}H_{30}O_2$, white needles (MeOH), Rf=0.3 (*n*-hexane:EtOAc=2:1), mp 162~164° (decomp.), $[\alpha]_D = +0^\circ$ (c 0.1 in $CHCl_3$), IR ν_{max} (neat): 2980(-OH), 1700(C=O) cm^{-1} , EIMS(70 eV) m/z (rel. int.): 302(M^+)(100), 287($M-CH_3$)⁺(61), 257($M-COOH$)⁺(42), 241(77), 187(57), 119(68), 105(94), 91(84), 79(72), ¹HNMR(300 MHz, $CDCl_3$), δ 0.84(3H, s, 17- CH_3), 0.88(3H, s, 20- CH_3), 1.25(3H, s, 19- CH_3), 4.89(1H, dd, $J=10.74, 1.47$ Hz, *cis* 16-H), 4.90(1H, dd, $J=17.55, 1.47$ Hz, *trans* 16-H), 5.20(1H, s, 7-H), 5.78(1H, dd, $J=17.51, 10.70$ Hz, 15-H), ¹³CNMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ : Table I.

Compound 2 - $C_{20}H_{30}O_2$, white needles (MeOH), Rf=0.3 (*n*-hexane:EtOAc=2:1), mp 171~173°, $[\alpha]_D = -20^\circ$ (c 2.6 in $CHCl_3$), IR ν_{max} (neat): 2975(-OH), 1700(C=O) cm^{-1} , EIMS(70 eV) m/z (rel. int.): 302(M^+)(39), 287($M-CH_3$)⁺(46), 257($M-COOH$)⁺(2), 241(19), 187(10), 133(38), 121(100), 119(40), 79(33), ¹HNMR(300 MHz, $CDCl_3$), δ 0.82(3H, s, 20- CH_3), 1.02(3H, s, 17- CH_3), 1.19(3H, s, 19- CH_3), 4.86(1H, dd, $J=10.74, 1.47$ Hz, *cis* 16-H), 4.89(1H, dd, $J=17.54, 1.47$ Hz, *trans* 16-H), 5.20(1H, s, 14-

H), 5.75(1H, dd, $J=17.41, 10.72$ Hz, 15-H), ¹³CNMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ : Table I.

Compound 3 - $C_{20}H_{32}O$, white needles (MeOH), Rf=0.3 (*n*-hexane:EtOAc=2:1), mp 146~148°, $[\alpha]_D = -36^\circ$ (c 0.1 in $CHCl_3$), IR ν_{max} (neat): 3272(-OH) cm^{-1} , EIMS(70 eV) m/z (rel. int.): 288(M^+)(30), 270($M-H_2O$)⁺(11), 255(38), 277(10), 187(11), 148(41), 105(57), 91(100), 79(66), 55(61), ¹HNMR(300 MHz, $CDCl_3$), δ 0.79(3H, s, 19- CH_3), 0.80(3H, s, 20- CH_3), 0.83(3H, s, 18- CH_3), 0.93(3H, s, 17- CH_3), 3.19(1H, t, $J=4.62$ Hz, 3-H), 4.80(1H, dd, $J=10.70, 1.23$ Hz, *cis* 16-H), 4.85(1H, dd, $J=17.51, 1.23$ Hz, *trans* 16-H), 5.31(1H, m, 7-H), 5.74(1H, dd, $J=17.51, 10.70$ Hz, 15-H), ¹³CNMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ : Table I.

Compound 4 - $C_{20}H_{32}O_2$, white needles (MeOH), Rf=0.3 (*n*-hexane:EtOAc=2:1), $[\alpha]_D = -42^\circ$ (c 0.1 in $CHCl_3$), IR ν_{max} (neat): 3272(-OH) cm^{-1} , EIMS(70 eV) m/z (rel. int.): 304(M^+)(24), 286($M-H_2O$)⁺(28), 271(52), 255(100), 239(33), 227(18), 199(40), 187(97), 171(38), 159(49), 145, 133, 119, 91, ¹HNMR(300 MHz, $CDCl_3$), δ 0.83(3H, s, 20- CH_3), 0.92(3H, s, 17- CH_3), 1.02(3H, s, 19- CH_3), 3.34(1H, d, 9.60 Hz, 18-H), 3.59(1H, d, 9.60 Hz, 18-H), 3.62(1H, br s, 3-H), 4.80(1H, dd, $J=10.70, 1.23$ Hz, *cis* 16-H), 4.85(1H, dd, $J=17.51, 1.23$ Hz, *trans* 16-H), 5.31(1H, m, 7-H), 5.74(1H, dd, $J=17.51, 10.70$ Hz, 15-H), ¹³CNMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ : Table I.

Compound 5 - $C_{20}H_{28}O_4$, colorless gum, Rf=0.13 (*n*-hexane:EtOAc=10:1), mp 113~114°, $[\alpha]_D = +23^\circ$ (c 0.1 in $CHCl_3$), IR ν_{max} (neat): 2900(-OH), 1690(C=O), 1750(C=O of lactone) cm^{-1} , EIMS(70 eV) m/z (rel. int.): 332(M^+)(1), 314($M-H_2O$)⁺(2), 287($M-COOH$)⁺(7), 271(8), 121(100), 119(47), 81(42), 79(27), 69(13), ¹HNMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.59(3H, s, 20- CH_3), 1.23(3H, s, 18- CH_3), 4.57(1H, br s, 17a-H), 4.88(1H, br s, 17b-H), 4.75(2H, br s, 15-H), 7.08(1H, br s, 14-H), ¹³CNMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ :

Table I. ¹³C NMR data of compounds 1~6

Carbon No.	1	2	3	4	5	6
1	38.80	38.37	37.83	37.43	12.79	39.22
2	17.92	18.23	27.40	26.71	19.85	19.99
3	36.81	37.11	79.28	77.16	38.05	38.05
4	46.06	47.34	38.57	41.74	44.05	44.27
5	45.00	48.91	49.98	44.42	56.02	55.62
6	25.16	24.99	23.09	23.90	26.03	26.15
7	120.95	35.56	121.41	120.87	38.64	38.50
8	135.65	136.70	135.41	135.23	147.32	148.03
9	51.99	50.66	50.33	51.62	55.69	56.40
10	34.99	37.81	35.31	35.04	40.44	40.54
11	20.00	18.65	20.10	20.08	21.84	22.06
12	36.09	34.53	36.10	35.99	24.65	38.81
13	36.98	37.47	36.80	36.76	134.86	140.61
14	46.29	129.20	45.92	45.84	143.80	123.08
15	150.30	148.98	150.31	150.19	70.08	59.50
16	109.25	110.23	109.20	109.25	174.33	16.46
17	21.47	26.11	28.31	21.42	106.82	106.57
18	185.18	184.90	21.44	71.62	28.95	29.09
19	17.11	16.86	15.69	11.45	181.20	183.48
20	15.28	15.29	14.88	15.45	12.79	12.90

Table I.

Compound 6 - $C_{20}H_{32}O_3$, white powder, $R_f = 0.55$ (*n*-hexane:EtOAc=1:1), mp 184~186°, $[\alpha]_D = +42^\circ$ (c 2 in EtOAc), IR ν_{max} (neat): 3610(-OH), 2800(-OH), 1710(C=O) cm^{-1} , EIMS (70 eV) m/z (rel. int.): 320[M⁺](5), 302[M-H₂O]⁺ (34), 287[M-H₂O-CH₃]⁺ (26), 257[M-H₂O-COOH]⁺ (17), 241(29), 221(9), 175(45), 121(71), 81(87), 79(100), ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃), δ : 0.57 (3H, s, 20-CH₃), 1.21(3H, s, 18-CH₃), 1.65(3H, s, 16-CH₃), 4.13(2H, d, $J=7.05$ Hz, 15-H), 4.50 (1H, br s, 17a-H), 4.83(1H, br s, 17b-H), 5.34 (1H, t, $J=7.05$ Hz, 14-H), ¹³C-NMR(75 MHz, CDCl₃) δ : Table I.

결과 및 고찰

Compound 1은 흰색의 침상 결정으로 anis-aldehyde-H₂SO₄에 의해 보라색을 띤 청남색으로 발색하였다. IR spectrum에서 2980 cm^{-1} (OH)와 1700 cm^{-1} (C=O)의 band와 EI mass spectrum에서 m/z 302[M]⁺, 257[M-COOH]⁺ peak로부터

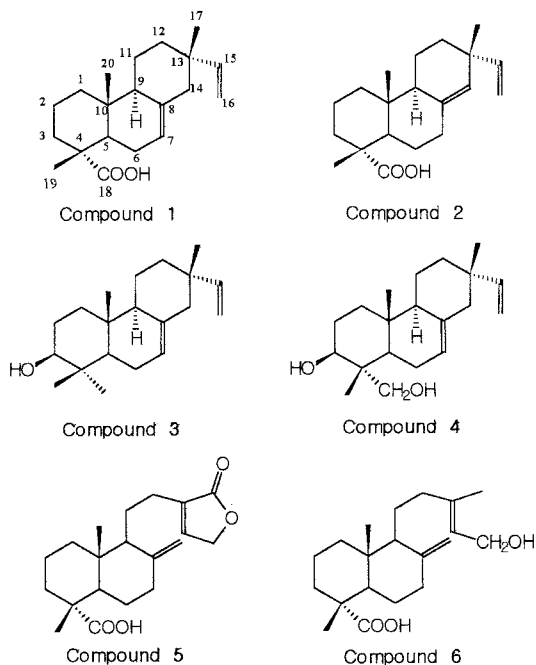


Fig. 1. Chemical structures of compounds 1~6 from *B. orientalis*.

터 carboxyl group의 존재를 확인할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 0.84(3H, s), 0.88 (3H, s) 및 1.25(3H, s)의 peak로부터 3개의 methyl기의 존재를 확인하였고 δ 4.89(1H, dd, $J=10.74, 1.47$ Hz), 4.90(1H, dd, $J=17.51, 1.47$ Hz) 및 5.78(1H, dd, $J=17.51, 10.70$ Hz) peak에서 CH=CH₂ group의 존재를 확인할 수 있었다. ¹³C-NMR spectrum에서 탄소수가 20개인 diterpene임을 추정하였고 ¹³C-¹H HETERO COSY와 DEPT spectrum에서 δ 109.25, 150.30의 peak를 -CH=CH₂기로 결정하였으며, δ 120.95 (CH)와 135.65(C) peak는 문헌⁷⁾과 비교하여 compound 1이 C-7과 C-8 위치에 이중결합이 존재하는 pimarane 골격의 diterpene⁸⁾임을 추정할 수 있었다. 이상의 결과를 문헌⁹⁾과 비교하여 compound 1을 7,15-isopimaradien-18-oic acid (isopimaric acid)로 동정하였다.

Compound 2는 흰색의 침상 결정으로 anis-aldehyde-H₂SO₄에 의해 보라색을 띤 청남색으로 발색하였다. IR과 EI mass spectrum이 compound 1과 동일하여 서로 이성질체임을 추정할 수 있었다. Compound 1의 ¹H-NMR spectrum은 compound 2와 거의 일치하였으며, ¹³C-NMR spectrum 역시 유사하였으나 이중결합에 해당하는 δ 120.95(CH) peak 대신 129.20(CH) peak를 관찰할 수 있었다. 이상의 결과를 근거로 compound 2는 compound 1과 동일한 골격을 갖지만 이중결합의 위치가 다른 isopimaric acid로 추정하였으며, 문헌⁹⁾과 비교, 검토하여 compound 2를 8(14),15-isopimaradien-18-oic acid (sandaracopimaric acid)로 동정하였다.

Compound 3은 흰색의 침상 결정으로 anis-aldehyde-H₂SO₄에 의해 보라색을 띤 청남색으로 발색하였다. IR spectrum에서 3272 cm^{-1} 의 band와 EI mass spectrum에서 m/z 288[M]⁺, 270 [M-H₂O]⁺ peak로부터 hydroxyl group의 존재를 확인할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서 δ 0.79(3H, s), 0.80(3H, s), 0.83(3H, s) 및 0.93 (3H, s)의 peak로부터 4개의 methyl기의 존재를 확인하였고, δ 4.80(1H, dd, $J=10.70, 1.23$ Hz), 4.85(1H, dd, $J=17.51, 1.23$ Hz) 및 5.75(1H, dd, $J=17.51, 10.70$ Hz) peak에서 -CH=CH₂

group의 존재를 확인할 수 있었으며 δ 5.31(1H, s)에서 이중결합의 존재를 확인할 수 있었다. ^{13}C -NMR spectrum에서 탄소수가 20개인 diterpene임을 추정하였고 ^{13}C - ^1H HETERO COSY와 DEPT spectrum에서 δ 109.25, 150.30의 peak를 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 기로 결정하였으며, δ 120.95(CH)와 135.65(C) peak로부터 compound 3은 compound 1과 동일하게 C-7과 C-8 위치에 이중결합이 존재하는 pimarane 골격의 diterpene⁸⁾임을 추정할 수 있었다. 이상의 결과를 문헌⁹⁾과 비교하여 compound 3을 7,15-isopimaradien-3-ol로 동정하였다.

Compound 4는 흰색의 침상 결정으로 anisaldehyde- H_2SO_4 에 의해 보라색을 띤 청남색으로 발색하였다. IR spectrum에서 3272 cm^{-1} 의 band와 EI mass spectrum에서 m/z 304(M)⁺, 286(M-H₂O)⁺ 및 255(M-H₂O-CH₂OH)⁺ peak로부터 hydroxyl group의 존재를 확인할 수 있었다. ^1H -NMR 및 ^{13}C -NMR spectrum은 compound 3과 거의 유사하였으나 δ 71.62(CH₂; δ 3.45, 3.65) peak로부터 7,15-isopimaradiene의 diol로 추정하였으며, ^{13}C - ^1H HETERO COSY와 HMBC spectrum으로 compound 4를 7,15-isopimaradien-3,19-diol로 동정하였으며, 문헌⁹⁾과 비교하여 이를 확인하였다.

Compound 5는 무색의 gum상의 물질로 anisaldehyde- H_2SO_4 에 의해 분홍색으로 발색하였다. IR spectrum에서 2900 cm^{-1} (OH)와 1690 cm^{-1} (C=O)의 band와 EI mass spectrum에서 m/z 332(M)⁺, 287(M-COOH)⁺ peak로부터 carboxyl group의 존재를 확인할 수 있었다. ^1H -NMR 및 ^{13}C -NMR spectrum으로부터 이 식물에서 분리 보고된 바 있는 pinusolide와 거의 일치하였으나 δ 51.14에서 관찰되는 $-\text{COOCH}_3$ 기의 peak가 관찰되지 않아 compound 5를 8(17),13-labdadien-16,15-olid-19-oic acid(demethylpinusolide)로 추정하였으며, 이는 문헌¹⁰⁾과 비교 검토하여 동정하였다.

Compound 6은 흰색의 분말상으로 anisaldehyde- H_2SO_4 에 의해 청남색으로 발색하였다. IR spectrum에서 3610 cm^{-1} 의 band로 free OH기의 존재와 2880 cm^{-1} (OH)와 1690 cm^{-1} (C=O)의 band로 carboxyl group의 존재를 알 수 있었다.

^1H -NMR spectrum에서 δ 0.57(3H, s), 1.21(3H, s) 및 1.65(3H, s)의 peak로부터 3개의 methyl기의 존재를 확인하였고 δ 5.34(1H, t, $J=7.05\text{ Hz}$)에서 methylene기의 존재를 알 수 있었으며, δ 4.50(1H, br s)과 4.83(1H, br s)의 peak에서 exocyclic methylene group의 존재를 확인할 수 있었다. ^1H - ^1H HOMO COSY, ^{13}C - ^1H HETERO COSY 및 DEPT difference spectrum으로부터 compound 6이 labdadienoic acid 계열의 diterpene임을 추정할 수 있었으며 문헌¹¹⁾과 비교하여 15-hydroxy-8(17),13-labdadien-19-oic acid(isocupric acid)로 동정하였다.

결 론

측백엽의 90% MeOH 분획으로부터 7,15-isopimaradien-18-oic acid, 8(14),15-isopimaradien-18-oic acid, 7,15-isopimaradien-3-ol, 7,15-isopimaradien-3,19-diol, 8(17), 13-labdadien-16, 15-olid-19-oic acid, 15-hydroxy-8(17),13-labdadien-19-oic acid 등 6종의 diterpenes을 분리하였다. 이들은 Biota 속에서는 처음으로 분리 보고되는 물질이다.

사 사

이 논문은 서울대학교 약학대학 부속 종합약학연구소 지원에 의해서 수행되었기에 감사 드립니다.

인용문헌

1. 정보섭, 신민교 (1990) 도해 향약 (생약) 대사전, 영림출판사, pp. 107-112.
2. Tomita, B., and Hirose, Y. (1969) Terpenoids XXIII. taxonomy of Cupressaceae. 2. sesquiterpenes of *Biota orientalis* wood. *Mokuzai Gakkaishi* 15: 337-340.
3. Tomita, B., Hirose, Y. and Nakatsuka, T. (1968) Terpenoids XVI. new constituents of *Biota orientalis* (*Thuja orientalis*). *Tetrahedron Lett.* 7: 843-848.
4. Tomita, B., Hirose, Y. and Nakatsuka, T. (1969) Terpenoids XIX. new constituents of *Biota orientalis* (*Thuja orientalis*). *Mokuzai Gakkaishi* 15: 46.

5. H. O. Yang, D. Y. Suh and B. H. Han (1995) Isolation and characterization of PAF receptor binding antagonists from *Biota orientalis*. *Planta Med.* 61: 37-40.
6. Andrew, P., Warren, R., Najma, H., Nizam, U., Khan, M. L. and Rahman, W. (1970) Biflavonyl pigments from *Thuja orientalis* (Cupressaceae). *Phytochemistry* 9: 1897-1898.
7. Kosuge, T., Yokota, M., Sugiyama, K., Saito M., Iwata, Y., Nakura, M. and Yamamoto, T. (1985) Studies on anticancer principles in Chinese medicines. II. Cytotoxic principles in *Biota orientalis* (L.) Endl. and *Kaempheria galanga* L.. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 5565-5567.
8. Weskert, E. and Buckwalter, B. L. (1972) Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of naturally occurring substances. XI. biosynthesis of the Virescenosides. *J. Am. Chem. Soc.* 94: 4369-4370.
9. Darling, T. R. and Turro, N. J. (1972) Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of naturally occurring substances. X. pimaradienes. *J. Am. Chem. Soc.* 94: 4367-4369.
10. Caldern, J. S., Quijano, L., Gomez-Garibay, F., Moran, M. and Rios, T. (1987) Labdane diterpenes from *Brickellia glomerata*. *Phytochemistry* 26: 2639-2641.
11. Su, W-C., Fang, J-M. and Cheng, Y-S. (1994) Labdanes from *Cryptomeria japonica*. *Phytochemistry* 37: 1109-1114.

(1998년 9월 25일 접수)