

인동의 성분연구 (1) - Sterol 및 Triterpenoid 화합물

김주선 · 연민혜 · 이소영 · 이제현¹ · 강삼식*

서울대학교 약학대학 천연물과학연구소, ¹동국대학교 한의과대학

Phytochemical Studies on *Lonicera Caulis* (1) - Sterols and Triterpenoids

Ju Sun Kim, Min Hye Yean, So Young Lee, Je-Hyun Lee¹ and Sam Sik Kang*

Natural Products Research Institute and College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

¹Department of Korean Medicine, Dongguk University, Gyeongju-si, Gyeongbuk 780-714, Korea

Abstract – Twelve compounds were isolated from the 70% ethanol extract of *Lonicera Caulis* (Caprifoliaceae) and their structures were identified as six triterpenoids [(24*S*)-cycloart-25-en-3 β ,24-diol (**1**), pomolic acid (**7**), ursolic acid (**8**), euscaphic acid (**9**), hederagenin (**10**), and 23-hydroxytormentic acid (**12**)] and six sterols [obtusifoliol (**2**), gramisterol (**3**), citrostadienol (**4**), β -sitosterol (**5**), ergosterol peroxide (**6**) and β -sitosterol glucoside (**11**)]. The chemical structures of these compounds were identified on the basis of spectroscopic methods and comparison with literature values. All the compounds were isolated from this plant parts for the first time.

Key words – *Lonicera japonica* Thunb., Caprifoliaceae, *Lonicera Caulis*, sterol, triterpenoid, isolation and identification

인동과 (Caprifoliaceae) 식물중의 하나인 인동덩굴 (*Lonicera japonica*)의 줄기를 인동등 (忍冬藤) 또는 금은화 (金銀藤), 꽃을 금은화 (金銀花)라고 하여 민간이나 한방에서 사용되고 있는 약재 중의 하나이다. 우리나라 약전 9개정판에는 인동덩굴의 꽃봉오리 또는 막 피기 시작한 꽃을 금은화 (Lonicera Flower, 金銀花), 인동덩굴의 잎 및 덩굴성 줄기를 인동 (*Lonicera Caulis*, 忍冬)으로 규정하고 두 품목이 수재되어 있다. 인동의 성분연구는 90년대 초반부터 연구되기 시작하여 현재 많은 성분들이 분리 보고되어 있다. 이들 성분들을 화합물 군으로 대별하면 flavonoid,¹⁻⁴ iridoid,⁴⁻⁸ saponin⁹⁻¹² 및 기타 phenol성 화합물⁴들로 대별할 수 있으나, 이 중 iridoid성분들이 주성분으로 밝혀지고 있다. 저자 등도 인동의 성분연구를 수행하여 수종의 flavonoid,^{1,2} iridoid² 및 saponin^{9,10} 성분들을 분리하고 이들의 활성에 관하여 보고^{5,9,10,13-21} 한 바 있다. 금번 인동의 성분에 관하여 연구를 수행한 결과 40여종에 이르는 각종 성분들을 분리하여 구조를 구명하였으며 이 중 sterol 및 triterpenoid성분 12종에 대하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 인동은 2007년 3월, 경북 봉화에서 재배한 인동 약 17 kg을 구입하여, 저자 중의 한 명인 이제현 교수가 감정을 하였다.

기기 및 시약 – 선광도는 Jasco P-1020 polarimeter를 사용하여 측정하였다. UV는 Hitachi U-3010를 사용하였으며, IR은 Jasco FT/IR-5300을 사용하여 측정하였다. NMR은 Varian Gemini 2000 (300 MHz) 또는 Bruker Avance 500 (500 MHz) spectrometer를 사용하여 측정하였으며, EIMS는 Hewlett-Packard 5989B GC/MS 또는 Jeol JMS-700 mass spectrometer를 사용하였다. FAB-MS는 Jeol JMS-700 high resolution mass spectrometer를 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Merck의 Kieselgel 60 (no. 7734, 9385 또는 7729)을, 역상크로마토그래피는 Merck의 LiChroprep RP-18 (particle size 40-63 μ m)를 사용하였다. TLC plate는 Merck의 Kieselgel 60F₂₅₄ 또는 RP-18_{254S} precoated plate를 사용하였다.

추출 및 분리 – 세절한 인동 15.6 kg에 70% EtOH을 가한 후 3시간씩 수욕상에서 5회 가열하여 얻은 추출물을 감압 농축하여 70% EtOH 엑스를 얻었다. 70% EtOH 엑스에

*교신저자 (E-mail): sskang@snu.ac.kr
(Tel): +82-2-880-2481

H₂O을 가하여 현탁 시킨 후 거의 동량의 hexane을 가하여 진탕 방지하여 hexane 분획 (81.3 g)을 얻었다. 같은 방법으로 수층에 거의 동량의 CH₂Cl₂을 가하여 진탕 방지하여 CH₂Cl₂ 분획 (97.8 g)을 얻었으며, 수층을 같은 방법으로 처리하여 EtOAc 분획 (127.2 g) 및 BuOH 분획 (491.5 g)을 각각 얻었다. 나머지 수층을 감압 농축하여 H₂O 분획을 얻었다.

Hexane 분획 (80.3 g)에 대하여 hexane/EtOAc (gradient)의 용출용매로 silica gel (Merck no. 7734) column chromatography를 실시하여 32개의 소분획을 얻었다. 이 중 소분획 H-18 (0.473 g)에 대하여 hexane/EtOAc (gradient)의 용출용매로 silica gel (Merck no. 7729) column chromatography를 실시하여 얻은 H-18-3을 CH₂Cl₂/MeOH 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 **1** (5 mg)을 얻었다.

CH₂Cl₂ 분획 (96.8 g)에 대하여 hexane, hexane/CH₂Cl₂ (1:1), CH₂Cl₂/MeOH (gradient)의 용출용매로 silica gel (Merck no. 7734) column chromatography를 실시하여 35개의 소분획들을 얻었다. 이 중 소분획 C-08 (0.2 g)에 대하여 hexane, hexane/EtOAc (gradient)의 용출용매로 silica gel (Merck no. 7729) column chromatography를 실시하여 얻은 소분획 C-08-35 (11 mg)을 다시 RP-18 column에 걸고 MeOH로 용출시켜 얻은 소분획 C-08-35-26로부터 화합물 **2** (2 mg)을, 소분획 C-08-35-31로부터 화합물 **3** (2 mg)을, 소분획 C-08-35-38으로부터 화합물 **4** (3 mg)를 각각 얻었다. 소분획 C-09을 CH₂Cl₂/MeOH 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 **5** (1.126 g)를 얻었다. 소분획 C-11 (6.0 g)에 대하여 hexane, hexane/EtOAc (gradient)의 용출용매로 silica gel (Merck no. 7734) column chromatography를 실시하여 얻어진 소분획 C-11-60 (0.25 g)에 대하여 CH₂Cl₂, CH₂Cl₂/MeOH (100 : 0.5)의 용출용매로 silica gel (Merck no. 9385) column chromatography를 실시하여 얻어진 소분획 C-11-60-76 (20 mg)을 MeOH로 RP-18 column chromatography를 실시하여 소분획 C-11-60-76-4로부터 화합물 **6** (7 mg)을 얻었다.

EtOAc 분획 126.2 g을 silica gel (Merck no. 7734) column에 걸고 CH₂Cl₂/MeOH (gradient)의 용매로 용출시켜 20개 소분획들을 얻었다. 이 중 E-05 (5.0 g) 및 E-07 (6.0 g)을 각각 silica gel (Merck no. 7734) column에 걸고 hexane, hexane/EtOAc (gradient)의 용출용매로 용출시켜 얻은 소분획 E-05-2 (0.2 g)를 재차 silica gel (Merck no. 7729) column에 걸어 CH₂Cl₂/MeOH/H₂O = 7 : 0.1 : 0.5 → 7 : 3 : 1의 용매로 용출시켰다. 여기서 얻은 소분획 E-05-2-1 (0.1 g)을 RP-18 column에 걸고 MeOH/H₂O = 95 : 5로 용출시켜 2개의 소분획 E-05-2-1-A와 E-05-2-1-B를 얻었으며 전자로부터 화합물 **7** (8 mg)을, 후자로부터 화합물 **8** (20 mg)을 각각 얻었다. 소분획 E-07-16을 MeOH/H₂O =

8 : 2의 용출용매로 RP-18 column chromatography를 실시하여 화합물 **9** (10 mg)을 얻었다. 소분획 E-07-46 (0.87 g)을 silica gel (Merck no. 7734) column에 걸고 CH₂Cl₂/MeOH/H₂O = 7 : 0.1 : 0.5 → 7 : 0.5 : 0.5 → 7 : 2 : 0.5의 용매로 용출시켜 화합물 **10** (6 mg)을 얻었다. 소분획 E-11 (8.14 g)를 silica gel (Merck no. 7734) column에 걸어 hexane/EtOAc (gradient)로 용출시켜 얻은 소분획 E-11-19 (800 mg)을 다시 silica gel (Merck no. 7729) column에 걸고 CH₂Cl₂/MeOH/H₂O = 7 : 0.5 : 0.5로 용출시켜 얻은 소분획 E-11-19-A를 CH₂Cl₂/MeOH 혼합용매로 재결정을 반복하여 화합물 **11** (56 mg)을 얻었으며, 그 모액 (53 mg)을 다시 RP-18 column에 걸고 MeOH/H₂O = 65 : 35로 용출시켜 화합물 **12** (16 mg)를 각각 분리하였다. 분리된 화합물들 중 β-sitosterol (**5**), ursolic acid (**8**), hederagenin (**10**) 및 β-sitosterol 3-O-β-D-glucoside (**11**)는 표준품과 직접적으로 대조하여 확인하였다.

(24S)-Cycloart-25-en-3β,24-diol (**1**) - 미백색 분말. $[\alpha]_D^{25} = +48.4^\circ$ ($c = 0.25$, MeOH). IR ν_{\max} 3388 (OH), 1649 (C=C), 1451 (CH₂), 1375 (CH₃), 1024, 899 (C=CH₂), 757 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.33 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19a), 0.55 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-19b), 0.81 (3H, s, 30-CH₃), 0.88 (3H, d, $J = 5.1$ Hz, 21-CH₃), 0.89 (3H, s, 28-CH₃), 0.96 (6H, s, 18, 29-CH₃), 1.72 (3H, s, 27-CH₃), 3.28 (1H, dd, $J = 4.5, 11.1$ Hz, H-3), 4.02 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-24), 4.84 (1H, br s, H-26a), 4.92 (1H, br s, H-26b). ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) δ : 31.9 (C-1), 30.3 (C-2), 78.8 (C-3), 40.4 (C-4), 47.1 (C-5), 21.1 (C-6), 26.0 (C-7), 48.0 (C-8), 19.9 (C-9), 26.0 (C-10), 26.4 (C-11), 32.8 (C-12), 45.2 (C-13), 48.8 (C-14), 35.5 (C-15), 28.1 (C-16), 52.1 (C-17), 18.0 (C-18), 29.9 (C-19), 35.9 (C-20), 18.3 (C-21), 31.8 (C-22), 31.4 (C-23), 147.5 (C-25), 111.5 (C-26), 17.2 (C-27), 25.4 (C-28), 14.0 (C-29), 19.3 (C-30). EI-MS m/z 442 [M]⁺ (0.8), 424 [M-H₂O]⁺ (3.3), 409 [M-H₂O-CH₃]⁺ (3.4), 391 [M-2H₂O-CH₃]⁺ (0.8), 381 [M-H₂O-C₃H₇]⁺ (3), 315 [M-side chain]⁺ (1.7), 302 (6.7), 297 [M-side chain-H₂O]⁺ (2), 203 (6.7), 175 (15), 95 (54), 71 (100), 55 (63).

Obtusifoliol (**2**) - 백색 무정형분말. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.71 (3H, s, 18-CH₃), 0.89 (3H, s, 14-CH₃), 0.93 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21-CH₃), 0.97 (3H, s, 19-CH₃), 1.00 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 4-CH₃), 1.02 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 26-CH₃), 1.03 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 27-CH₃), 3.09 (1H, m, H-3), 4.66 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, C=CH₂), 4.72 (1H, br s, C=CH₂). EI-MS m/z 426 [M]⁺ (12), 411 [M-CH₃]⁺ (28), 393 [M-CH₃-H₂O]⁺ (8), 383 (7), 327 (10), 245 (24), 105 (88), 55 (100).

Gramisterol (3) – 백색 무정형분말. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.54 (3H, s, 18- CH_3), 0.83 (3H, s, 19- CH_3), 0.95 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21- CH_3), 0.99 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 4- CH_3), 1.02 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 26- CH_3), 1.03 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 27- CH_3), 3.13 (1H, m, H-3), 4.66 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, $\text{C}=\text{CH}_2$), 4.71 (1H, br s, $\text{C}=\text{CH}_2$), 5.18 (1H, m, H-7). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ : 37.0 (C-1), 31.1 (C-2), 76.2 (C-3), 40.3 (C-4), 46.7 (C-5), 26.6 (C-6), 117.5 (C-7), 139.1 (C-8), 49.6 (C-9), 34.6 (C-10), 21.4 (C-11), 39.6 (C-12), 43.4 (C-13), 55.0 (C-14), 22.9 (C-15), 27.9 (C-16), 56.0 (C-17), 11.8 (C-18), 14.1 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 34.8 (C-22), 29.7 (C-23), 156.9 (C-24), 33.8 (C-25), 21.9 (C-26), 22.0 (C-27), 15.1 (4- CH_3), 105.9 ($\text{C}=\text{CH}_2$). EI-MS m/z 412 $[\text{M}]^+$ (6), 397 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ (7), 379 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$ (3), 328 (19), 313 (7), 285 (100), 241 (11).

Citrostadienol (4) – 미백색 분말. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.54 (3H, s, 18- CH_3), 0.83 (3H, s, 19- CH_3), 0.95 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21- CH_3), 0.98 (6H, d, $J = 6.9$ Hz, 26, 27- CH_3), 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 4- CH_3), 1.59 (3H, dt, $J = 1.2, 6.6$ Hz, 29- CH_3), 2.83 (1H, septet, $J = 6.9$ Hz, H-25), 3.12 (1H, dt, $J = 3.3, 11.1$ Hz, H-3), 5.11 (1H, q, $J = 6.6$ Hz, H-28), 5.18 (1H, dd, $J = 1.5, 6.0$ Hz, H-7). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ : 37.0 (C-1), 31.0 (C-2), 76.2 (C-3), 40.3 (C-4), 46.7 (C-5), 26.6 (C-6), 117.5 (C-7), 139.1 (C-8), 49.7 (C-9), 34.8 (C-10), 21.4 (C-11), 39.5 (C-12), 43.4 (C-13), 55.0 (C-14), 22.9 (C-15), 28.0 (C-16), 56.0 (C-17), 11.8 (C-18), 14.1 (C-19), 36.6 (C-20), 18.9 (C-21), 35.9 (C-22), 28.0 (C-23), 145.8 (C-24), 28.6 (C-25), 21.0 (C-26), 21.1 (C-27), 15.1 (4- CH_3), 116.5 (C-28), 12.7 (C-29). EI-MS m/z 426 $[\text{M}]^+$ (1), 411 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ (1), 408 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (1), 328 (33), 313 (6), 285 (100), 267 (6), 245 (5), 227 (8).

Ergosterol peroxide (6) – 백색 침상결정. IR ν_{max} 3433 (OH), 1635 (C=C), 1458, 1379, 1075, 1043, 969 (*trans* C=C) cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.81 (3H, s, 18- CH_3), 0.81 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 27- CH_3), 0.83 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 26- CH_3), 0.88 (3H, s, 19- CH_3), 0.90 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 28- CH_3), 0.99 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21- CH_3), 3.97 (1H, m, H-3), 5.13 (1H, dd, $J = 7.5, 15.3$ Hz, H-22), 5.22 (1H, dd, $J = 7.2, 15.3$ Hz, H-23), 6.24 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.50 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, CDCl_3) δ : 34.6 (C-1), 30.1 (C-2), 66.4 (C-3), 36.9 (C-4), 82.1 (C-5), 135.4 (C-6), 130.7 (C-7), 79.4 (C-8), 51.0 (C-9), 36.9 (C-10), 23.4 (C-11), 39.3 (C-12), 44.5 (C-13), 51.6 (C-14), 20.6 (C-15), 28.6 (C-16),

56.1 (C-17), 12.8 (C-18), 18.2 (C-19), 39.3 (C-20), 20.9 (C-21), 135.4 (C-22), 132.3 (C-23), 42.7 (C-24), 33.0 (C-25), 19.6 (C-26), 19.9 (C-27), 17.5 (C-28). EI-MS m/z 428 $[\text{M}]^+$ (5.4), 410 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (15.4), 392 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ (9.2), 377 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3]^+$ (17.7), 267 (23.1), 249 (20.0), 213 (12.4), 133 (50.8), 89 (100), 69 (62.3). (+)-FAB-MS m/z 451 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 429 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Pomolic acid (7) – 백색 무정형분말. $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +22.2^\circ$ ($c = 0.15$, MeOH). IR ν_{max} 3420 (OH), 1688 (COOH), 1460, 1387, 1030 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.90, (3H, s, 25- CH_3), 1.01 (3H, s, 23- CH_3), 1.10 (3H, s, 26- CH_3), 1.22 (3H, s, 24- CH_3), 1.44 (3H, s, 29- CH_3), 1.71 (3H, s, 27- CH_3), 1.10 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 30- CH_3), 2.33 (1H, ddd, $J = 4.5, 13.6, 13.6$ Hz, H-15 β), 3.05 (1H, br s, H-18), 3.12 (1H, ddd, $J = 4.0, 12.9, 12.9$ Hz, H-16 α), 3.42 (1H, dd, $J = 5.2, 10.9$ Hz, H-3), 5.60 (1H, br s, H-12). $^{13}\text{C-NMR}$ (125.8 MHz, pyridine- d_5) δ : 39.0 (C-1), 28.1 (C-2), 78.2 (C-3), 39.3 (C-4), 55.8 (C-5), 18.9 (C-6), 33.6 (C-7), 40.3 (C-8), 47.7 (C-9), 37.3 (C-10), 24.0 (C-11), 128.0 (C-12), 139.9 (C-13), 42.1 (C-14), 29.3 (C-15), 26.4 (C-16), 48.3 (C-17), 54.6 (C-18), 72.7 (C-19), 42.3 (C-20), 27.1 (C-21), 38.5 (C-22), 28.7 (C-23), 16.7 (C-24), 15.5 (C-25), 17.2 (C-26), 24.6 (C-27), 180.7 (C-28), 26.9 (C-29), 16.5 (C-30). EI-MS m/z 472 $[\text{M}]^+$ (2), 454 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (5), 439 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$ (2), 426 $[\text{M}-\text{COOH} + \text{H}]^+$ (18), 354 (10), 264 (14), 246 (23), 220 (24), 207 (35), 201 (34), 190 (50), 146 (100).

Euscaphic acid (9) – 백색 무정형분말. $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +12.0^\circ$ ($c = 0.2$, MeOH). IR ν_{max} 3436 (OH), 1690 (COOH), 1458, 1379, 1040, 939, 768 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.89 (3H, s, 23- CH_3), 0.97 (3H, s, 25- CH_3), 1.09 (3H, s, 26- CH_3), 1.10 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 30- CH_3), 1.25 (3H, s, 24- CH_3), 1.40 (3H, s, 29- CH_3), 1.63 (3H, s, 27- CH_3), 1.74 (1H, t, $J = 11.7$ Hz, H-1 α), 1.88 (1H, dd, $J = 4.5, 12.0$ Hz, H-1 β), 2.32 (1H, ddd, $J = 4.2, 13.2, 13.2$ Hz, H-15 β), 3.03 (1H, br s, H-18), 3.10 (1H, ddd, $J = 4.5, 12.9, 13.2$ Hz, H-16 α), 3.75 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3 β), 4.29 (1H, ddd, $J = 2.7, 4.2, 11.6$ Hz, H-2 β), 5.57 (1H, br s, H-12). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.5 MHz, pyridine- d_5) δ : 42.4 (C-1), 66.1 (C-2), 79.3 (C-3), 38.8 (C-4), 48.8 (C-5), 18.6 (C-6), 33.5 (C-7), 40.6 (C-8), 47.6 (C-9), 38.7 (C-10), 24.1 (C-11), 128.0 (C-12), 140.0 (C-13), 42.9 (C-14), 29.2 (C-15), 26.4 (C-16), 48.3 (C-17), 54.6 (C-18), 72.7 (C-19), 42.2 (C-20), 26.9 (C-21), 38.5 (C-22), 29.4 (C-23), 22.3 (C-24), 16.8 (C-25), 17.3 (C-26), 24.6 (C-27), 180.7 (C-28), 27.1 (C-29), 16.6 (C-30). EI-MS m/z

488 $[M]^+$ (6), 470 $[M - H_2O]^+$ (5), 455 $[M - H_2O - CH_3]^+$ (9), 452 $[M - (2 \times H_2O)]^+$ (7), 442 $[M - (COOH + H)]^+$ (38), 424 (11), 409 (8), 370 (15), 264 [D/E ring (a)]⁺ (29), 246 (77), 223 (44), 218 (69), 201 (99), 146 (100).

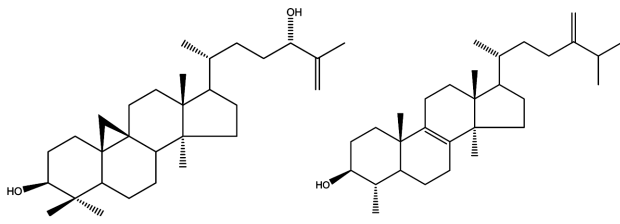
23-Hydroxytormentonic acid (12) – 백색 무정형 분말. $[\alpha]_D^{23} = -6.4^\circ$ ($c = 0.1$, pyridine). IR ν_{max} 3420 (OH), 1690 (COOH), 1458, 1377, 1049 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, pyridine- d_5) δ : 1.06, 1.08, 1.11, 1.40, 1.64 (3H each, s, $5 \times CH_3$), 1.09 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 30- CH_3), 2.33 (1H, ddd, $J = 3.9, 11.4, 11.4$ Hz, H-15 β), 3.04 (1H, br s, H-18), 3.08 (1H, ddd, $J = 4.2, 13.5, 13.5$ Hz, H-16 α), 3.71 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-23a), 4.18 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3 α), 4.25 (1H, ddd, $J = 3.6, 9.3, 9.3$ Hz, H-2 β), 4.19 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-23b), 5.57 (1H, br s, H-12). 1H -NMR (300 MHz, pyridine- d_5 + D_2O) δ : 1.00, 1.01, 1.05, 1.38, 1.59 (3H each, s, $5 \times CH_3$), 1.07 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 30- CH_3), 2.27 (1H, ddd, $J = 3.9, 12.0, 12.0$ Hz, H-15 β), 2.98 (1H, br s, H-18), 3.02 (1H, ddd, $J = 3.6, 13.0, 13.0$ Hz, H-16 α), 3.66 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-23a), 4.15 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-3 α), 4.22 (1H, ddd, $J = 4.2, 9.9, 10.1$ Hz, H-2 β), 4.13 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-23b), 5.52 (1H, br s, H-12). ^{13}C -NMR (125.8 MHz, pyridine- d_5) δ : 47.7 (C-1), 68.8 (C-2), 78.3 (C-3), 43.6 (C-4), 47.9 (C-5), 18.6 (C-6), 33.1 (C-7), 40.4 (C-8), 47.7 (C-9), 38.3 (C-10), 24.1 (C-11), 127.8 (C-12), 139.9 (C-13), 42.1 (C-14), 29.3 (C-15), 26.3 (C-16), 48.2 (C-17), 54.5 (C-18), 72.6 (C-19), 42.3 (C-20), 26.9 (C-21), 38.4 (C-22), 66.5 (C-23), 14.2 (C-24), 17.3 (C-25), 17.3 (C-26), 24.6 (C-27), 180.8 (C-28), 27.0 (C-29), 16.7 (C-30). (+)-FAB-MS m/z 527 $[M + Na]^+$. EI-MS m/z 504 $[M]^+$ (8), 486 $[M - H_2O]^+$ (5), 468 $[M - (2 \times H_2O)]^+$ (7), 458 $[M - (COOH + H)]^+$ (35), 386 (12), 264 [D/E ring]⁺ (16), 246 (25), 218 (23), 201 (33), 146 (69), 72 (100).

결과 및 고찰

인동 (*Lonicera Caulis*, 忍冬)의 70% EtOH 추출물을 분획하여 얻은 hexane 분획으로부터 분리한 화합물 **1**의 1H -NMR spectrum을 보면 고자장 영역 (δ 0.33, 0.55)에서 특징적으로 나타나는 2개의 doublet signal들이 나타나고 있는 것으로 보아 cycloartane 계열의 triterpene임을 알았다. 이외에도 5개의 singlet CH_3 signal들과 하나의 secondary CH_3 signal이 나타나며, tertiary CH_3 signal 중 저자장 (δ 1.72)에서 나타나는 CH_3 signal 및 2개의 exomethylene signal들이 각각 δ 4.84, 4.92에서 broad singlet signal로 나타나고 있는 것으로 보아 isopropenyl group의 존재를 추정할 수 있었다.

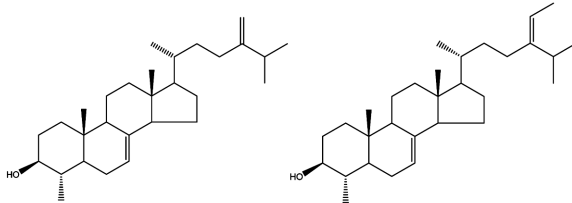
또한 δ 3.28에서 전형적인 H-3 (dd, $J = 4.5, 11.1$ Hz)와, 또 하나의 allylic oxymethine proton이 δ 4.02 (t, $J = 6.6$ Hz)에서 나타나고 있음을 알았다. 이상의 결과는 ^{13}C -NMR에서도 입증할 수 있었다. 또한 side chain에 존재하는 allylic oxymethine carbon의 chemical shift값은 용매피크와 겹쳐서 확인이 어려우나 주변탄소의 ^{13}C -NMR data가 24S configuration을 갖는 model compound^{22,23}와 일치하므로 화합물 **1**은 (24S)-cycloart-25-en-3 β ,24-diol로 결정하였다.^{24,25} 인동의 CH_2Cl_2 분획에서 얻은 화합물 **2**, **3** 및 **4**는 sterol의 일종인 ergostadiene으로 각각 1 ppm 부근에서 doublet ($J = 6.3 \sim 6.6$ Hz)로 나타나고 있는 secondary CH_3 이 존재하고 있는 것으로 보아 4 α -methylergostane계²⁶인 obtusifoliol (**2**), gramisterol (**3**) 및 citrostadienol (**4**)²⁷로 결정하였다. 화합물 **5**는 β -sitosterol, 화합물 **6**은 ergosterol peroxide²⁸이고 화합물 **7** - **10** 및 **12**는 모두 triterpene 계열의 특징적인 spectral data들을 나타내고 있음을 확인하였다. 즉, 화합물 **8**은 ursolic acid, **10**은 hederagenin임을 추정하고 표준품과 직접적으로 대조하여 확인하였다. 화합물 **7**의 분광학적 데이터들도 ursolic acid (**8**)와 매우 유사하나, H-18이 δ 3.05에서 broad singlet로 나타나고 있고, EI-MS에서도 ursolic acid (**8**)의 분자량인 456 amu보다 16 dalton이 더 많은 472 amu에서 나타나고 있으며 19 α -hydroxyursane 계열의 특징적인 fragment ion들²⁹이 나타나고 있는 것으로 보아 pomolic acid (**7**)³⁰로 결정할 수 있었다. 화합물 **9**도 pomolic acid (**7**)와 같은 19 α -hydroxyursolic acid 계열의 화합물이며 분자량이 pomolic acid (**7**)보다 16 dalton이 더 크나 pomolic acid (**7**)와는 달리 A/B ring쪽에 2개의 OH가 존재함을 알았다. 1H -NMR spectrum에서 이들의 oxygenated methine proton들이 각각 δ 3.75 (d, $J = 2.4$ Hz)와 4.29 (ddd, $J = 2.7, 4.2, 11.6$ Hz)에서 나타나고 있는 것으로 보아 2 α ,3 α -dihydroxy group이 존재함을 알 수 있고, 이는 ^{13}C -NMR data에서 δ 66.1과 79.3에서 2개의 oxygenated methine carbon signal들이 나타나는 것으로 확인할 수 있었다. 따라서 화합물 **9**는 euscaphic acid³¹로 결정하였다. 화합물 **12**도 pomolic acid (**7**)나 euscaphic acid (**9**)과 같은 19 α -hydroxyursane 계열²⁹이며 2 α ,3 β ,23-trihydroxy group이 존재함을 EI-MS 및 NMR data로 확인할 수 있으므로 23-hydroxytormentonic acid (**12**)³²로 확정하였다. 화합물 **11**은 식물에 흔히 존재하고 있는 β -sitosterol glucoside (daucosterol)로 확인하였다.

저자 등은 인동의 성분들로 flavonoid 성분들인 quercetin, ochnaflavone, ochnaflavone 4'-O-methyl ether, astragalín, isoquercitrin, rhoifolin, diosmetin 7-O-glucoside, lonicerin 등을 분리하여 구조를 규명하여 보고한 바 있으며,^{1,2} Kumar 등³도 인동으로부터 luteolin, chrysin, 3'-O-methylfloniflavone 및 loniflavone 등을 분리 보고한 바 있다. Qian 등⁴은 HPLC



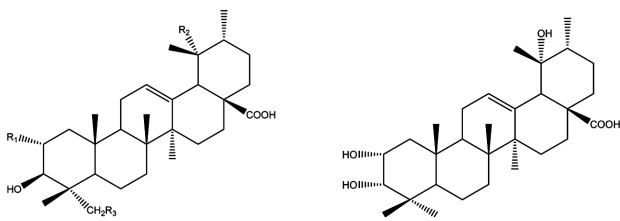
(24S)-Cycloart-25-en-3β,24-diol (1)

Obtusifoliol (2)



Gramisterol (3)

Citrostadienol (4)



Pomolic acid (7) R₁=R₃= H R₂= OH

Ursolic acid (8) R₁=R₂=R₃= H

23-Hydroxytormentic acid (12) R₁=R₂=R₃= OH

Euscaphic acid (9)

로 rutin, luteolin 7-O-glucoside 등을 확인하여 보고한 바 있다. Iridoid 성분으로는 loganin, sweroside, secologanin 이외에 secoxyloganin, vogeloside, epivogeloside, L-phenylalaninosecologanin, 7-O-(4-β-D-glucopyranosyloxy-3-methoxybenzoyl)secologanolic acid, 6'-O-(7α-hydroxyswerosyloxy)loganin, (Z)-aldosecologanin, (E)-aldosecologanin, secologanin dimethylacetal, 7-O-butyl secologanic acid⁴⁻⁸⁾ 등이 분리되어 보고한 바 있다. Saponin 성분으로는 연구자들이 분리한 loniceroside A, B⁹⁾ loniceroside C¹⁰⁾ 외에, 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-[3-O-acetyl-β-D-xylopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-β-D-xylopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, hederagenin 3-O-α-L-arabinopyranoside, hederagenin 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranoside, hederagenin 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranoside, 3-O-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→

6)-β-D-glucopyranoside, 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-β-D-glucopyranoside, 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O-[6-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl](1→6)-β-D-glucopyranoside, 3-O-α-L-arabinopyranosyl oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, oleanolic acid 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranoside, 3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside, 3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-α-L-arabinopyranosyl oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranoside^{11,12)} 등 oleanolic acid와 hederagenin을 aglycon으로 하는 saponin들이 분리되어 구조가 규명되어 보고된 바 있다. 기타 phenol성 성분들로서는 chlorogenic acid와 caffeic acid 등이 분리되어 보고⁴⁾된 바 있으며, flavonolignan계 성분인 hydnocarpin도 분리하여 보고한 바 있다.¹⁾

본 실험에서 분리 확인된 성분들은 모두 인동으로부터 처음으로 분리 확인된 물질들임을 알았다. 위에서 언급한 바와 같이 인동으로부터 분리 확인된 saponin성분들은 모두 oleanolic acid와 hederagenin을 aglycon으로 하는 saponin들이 분리되어 보고된 바 있으나, hederagenin (10) 이외에는 ursane계 triterpenoid 성분들이 분리 확인된 점은 흥미로운 일이다. 또한 cycloartane계인 (24S)-cycloart-25-en-3β,24-diol (1)과 4α-methylsterol 성분들 (4, 3, 2) 및 24-methylsterol 중의 하나인 ergosterol peroxide (6)의 존재와, β-sitosterol (5) 및 이의 glucoside인 β-sitosterol glucoside (11) 성분들이 분리 확인된 점도 sterol의 생합성적인 관점³³⁾에서 흥미로운 일이다.

결론

인동으로부터 6종의 triterpenoid성분 및 6종의 sterol성분들을 단리하여 각각 (24S)-cycloart-25-en-3β,24-diol (1), pomolic acid (7), ursolic acid (8), euscaphic acid (9), hederagenin (10) 및 23-hydroxytormentic acid (12)와 obtusifoliol (2), gramisterol (3), citrostadienol (4), β-sitosterol (5) ergosterol peroxide (6) 및 β-sitosterol glucoside (11)로 확인하였다. 이들 성분들은 모두 인동으로부터 최초로 분리된 화합물들이다.

사사

본 연구는 식품의약품안전청 과제인 한약재 평가기술과 학화 연구사업 중 “한약재 생리활성성분분리 및 효능유전

자 확인연구: 인동, 금은화 (과제번호: 08182KFDA252)”과제의 일환으로 수행되었다. 또한 BK21사업에 의해 일부 지원되었으며 이에 감사드린다.

인용문헌

- Son, K. H., Park, J. O., Chung, K. C., Chang, H. W., Kim, H. P., Kim, J. S. and Kang S. S. (1992) Flavonoids from the Aerial Parts of *Lonicera japonica*. *Arch. Pharm. Res.* **15**, 365-370.
- Son, K. H., Kim, J. S., Kang, S. S., Kim, H. P. and Chang, H. W. (1994) Isolation of flavonoids from *Lonicera japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, 24-27.
- Kumar, N., Singh, B., Bhandari, P., Gupta, A. P., Uniyal, S. K. and Kaul, V. K. (2005) Biflavonoids from *Lonicera japonica*. *Phytochemistry* **66**, 2740-2744.
- Qian, Z.-M., Li, H.-J., Li, P., Chen, J. and Tang, D. (2007) Simultaneous quantification of seven bioactive components in Caulis *Lonicerae Japonicae* by high performance liquid chromatography. *Biomed. Chromatogr.* **21**, 649-654.
- Lee, S. J., Shin, E. J., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. and Kim, H. P. (1995) Antiinflammatory activity of the major constituents of *Lonicera japonica*. *Arch. Pharm. Res.* **18**, 133-135.
- Kawai, H., Kuroyanagi, M. and Ueno, A. (1988) Iridoid glucosides from *Lonicera japonica* Thunb. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 3664-3666.
- Tomassini, L. M., Cometa, F., Serafini, M. and Nicoletti, M. (1995) Isolation of secoiridoid artifacts from *Lonicera japonica*. *J. Nat. Prod.* **58**, 1756-1758.
- Machida, K., Sakaki, H., Iijima, T. and Kikuchi, M. (2002) Studies on the constituents of *Lonicera* species. XVII. New iridoid glycosides of the stems and leaves of *Lonicera japonica* Thunb. *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 1041-1044.
- Son, K. H., Jung, K. Y., Chang, H. W., Kim, H. P. and Kang, S. S. (1994) Triterpenoid saponins from the aerial parts of *Lonicera japonica*. *Phytochemistry* **35**, 1005-1008.
- Kwak, W. J., Han, C. K., Chang, H. W., Kim, H. P., Kang, S. S. and Son, K. H. (2003) Loniceroid C, an antiinflammatory saponin from *Lonicera japonica*. *Chem. Pharm. Bull.* **51**, 333-335.
- Yahara, S., Kobayashi, N. and Nohara, T. (1990) Studies on the triterpenoid glycosides in *Lonicerae Caulis et Folium*. *Shoyakugaku Zasshi* **44**, 339-342.
- Kawai, H., Kuroyanagi, M., Umehara, K., Ueno, A. and Satake, M. (1988) Studies on the saponins of *Lonicera japonica* Thunb. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 4769-4775.
- 문태철, 박정옥, 정광원, 손건호, 김현표, 강삼식, 장현옥, 정규찬 (1999) Anti-inflammatory activity of the flavonoid components of *Lonicera japonica*. *약학회지* **43**, 117-123.
- Lee, S. J., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S., Park, P.-U., Kwak, W.-J., Han, C.-K. and Kim, H. P. (1994) Development of plant antiinflammatory agents: Comparison of antiinflammatory and analgesic activities of extracts from *Lonicera japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, 363-367.
- Lee, S. J., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. and Kim, H. P. (1998) Antiinflammatory activity of *Lonicera japonica*. *Phytother. Res.* **12**, 445-447.
- Lee, S. J., Choi, J. H., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. and Kim, H. P. (1995) Suppression of mouse lymphocyte proliferation *in vitro* by naturally occurring biflavonoids. *Life Sci.* **57**, 551-558.
- 정대영, 이호영, 하혜경, 정다영, 강삼식, 김정숙 (2003) Induction of growth hormone release by the extracts of *Lonicera japonica* THUNB. *생약학회지* **34**, 256-262.
- Kim, S. Y., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S. and Kim, H. P. (1999) Inhibition of mouse ear edema by steroidal and triterpenoid saponins. *Arch. Pharm. Res.* **22**, 313-316.
- Suh, S.-J., Chung, T.-W., Son, M.-J., Kim, S.-H., Moon, T.-C., Son, K.-H., Kim, H. P., Chang, H. W. and Kim, C.-H. (2006) The naturally occurring biflavonoid, ochnaflavone, inhibits LPS-induced iNOS expression, which is mediated by ERK1/2 via NF-κB regulation, in RAW264.7 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* **447**, 136-146.
- Son, M.-J., Moon, T.-C., Lee, E.-K., Son, K.-H., Kim, H. P., Kang, S. S., Son, J. K., Lee, S. H. and Chang, H. W. (2006) Naturally occurring biflavonoid, ochnaflavone, inhibits cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase in mouse bone marrow-derived mast cells. *Arch. Pharm. Res.* **29**, 282-286.
- Kang, Y.-J., Min, H.-Y., Hong, J.-Y., Kim, Y. S., Kang, S. S. and Lee, S. K. (2009) Ochnaflavone, a natural biflavonoid, induces cell cycle arrest and apoptosis in HCT-15 human colon cancer cells. *Biomolecules & Therapeutics* **17**, 282-287.
- Luo, H.-F., Li, Q.-L., Yu, S.-G., Badger, T. M. and Fang, N.-B. (2005) Cytotoxic hydroxylated triterpene alcohol ferulates from rice bran. *J. Nat. Prod.* **68**, 94-97.
- Kitajima, J., Kimizuka, K. and Tanaka, Y. (1998) New sterols and triterpenoids of *Ficus pumila* fruit. *Chem. Pharm. Bull.* **46**, 1408-1411.
- Pei, Y.-G., Wu, Q.-X. and Shi, Y.-P. (2007) Triterpenoids and other constituents from *Euphorbia humifusa*. *J. Chin. Chem. Soc.* **54**, 1565-1572.

25. Greca, M. D., Fiorentino, A., Monaco, P. and Previtiera, L. (1994) Cycloartane triterpenes from *Juncus effusus*. *Phytochemistry* **35**, 1017-1022.
26. Iida, T. and Matsumoto, T. (1980) NMR spectra of sterols. *J. Japan Oil Chem. Soc.* **29**, 141-161.
27. Goad, L. J. and Akihisa, T. (1997) Analysis of Sterols. 396-398, Blackie Academic & Professional, London.
28. Lee, S. H., Shim, S. H., Kim, J. S. and Kang, S. S. (2006) Constituents from the fruiting bodies of *Ganoderma applanatum* and their aldose reductase inhibitory activity. *Arch. Pharm. Res.* **29**, 479-483.
29. 강삼식, 손건호 (2000) 천연물성분 구조결정법, 서울대학교 출판부, 서울.
30. Xu, Y. N., Kim, J. S., Kang, S. S., Son, K. H., Kim, H. P., Chang, H. W. and Bae, K.-H. (2002) Components from the roots of *Chaenomeles japonica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**, 267-271.
31. Liang, G.-Y., Gray, A. I. and Waterman, P. G. (1989) Pentacyclic triterpenes from the fruits of *Rosa sterilis*. *J. Nat. Prod.* **52**, 162-166.
32. Kim, Y. H. and Kang, S. S. (1993) Triterpenoids from *Rubi Fructus* (Bogbunja). *Arch. Pharm. Res.* **16**, 109-113.
33. Dewick, P. M. (2009) Medicinal natural products. 3rd ed. 253, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.

(2009년 11월 4일 접수)