THE DAEHAN HWAHAK HWOEJEE
Vol. 11, Number 3, 1967
Printed in Republic of Korea

참조팝나무의 成分 Alkaloid에 關한 硏究

大邱大學 藥學部

陳 甲 德

(1967. 10. 15. 受理)

Studies on the Constituents of Spiraea Koreana Nakai

by

KAB DUCK JIN

Pharmaceutical Faculty, Taegu University, Taegu, Korea

(Received October 15, 1967)

Abstract

A new alkaloid named *Spirajine*(m. p. 182~184°C $[\alpha]_D^{19}+3.4°$ in $CHCl_3$, $C_{23}H_{33}NO_3$, colorless prism) was isolated from the leaves of *Spiraea Koreana Nakai* (*Spiraeceae*) (Korean name "Chamjopab namu") which grows in the mountaineous area of Korea, by process of Scheme I (yields 0.13%). Another two unidentified alkaloids (not yet crystallized) were separated by the method of thin layer chromatography. (The Rf values of the two unidentified alkaloids were 0.66, 0.77, respectively and *Spirajine* 0.72)

Spirajine were subjected to the structural investigation with the use of ultra violet and infra red spectrophotometry, and opical rotatory dispersion. The alkaloid contains two ketonic carbonyl groups, tertiary hydroxyl group, methyl groups, N-methyl group and both cyclohexane ring and cyclopentane ring.

要 約

韓國 山野에 野生하는 참조팝나무 *Spiraea Koreana Nakai*(*Spiraeceae*)葉으로부터 m. p. 182~184°C의 苦味를 갖인 Alkaloid를 無色 柱狀의 結晶으로 얻었다(收得率 0.13%). 이 物質은 光學的으로 活性이며(比旋光度 $[\alpha]_D^{19}+3.4°$ in $CHCl_3$), Mass Spectrometry에 依해 決定한 分子式은 $C_{23}H_{33}NO_3$이다. 文獻未記載의 것임으로 *Spirajine*이라 命名하였다. *Spiraea Koreana N.* 葉 中에는 이 外에도 다른 2種의 알칼로이드가 微量으로 含有되어 있음을 Thin Layer Chromatography로 確認하였으나 結晶으로는 못 얻었다. *Spirajine*의 部分化學構造에 對해 化學反應, UV, IR, NMR, MS, ORD 等으로 分析檢討함과 아울러 Mass Spectrogram의 Cracking Pattern으로부터의 Fragmentation Analysis의 結果, 分子 中 Cyclohexane 및 Cyclopentane 고리들을 갖이며 그 中 하나는 α,β 不飽和 Cyclohexenone 고리이고 그 外에 Methyl基, 카보닐基, 水酸基, N-Methyl基 等 여러 作用基의 存在를 決定하였다.

緖 論

1965年 8月 施行한 雪岳山, 太白山地區 植物에 對한 韓國野生植物의 Alkaloid Screening Test의 結果 神興寺 附近에서 採集한 참조팝나무 *Spiraea Korena Nakai* (*Spiraeceae*)[1],[2]에 Alkaloid가 含有됨을 認知하고 이것을 抽出 Thin Layer Chromatography로 Alkaloid反應에 陽性인 物質을 分離하여 Rf値가 다른 2가지 物質을 檢出한 바 있으며[3] 1966年 6月 大邱 附近 八公山에서 採集한 試料에 對하여 Scheme I과 같은 方法에 따라 Alkaloid反應 陽性의 物質을 分離精製하여 그 中 主成分인 物質을 結晶으로 얻었다.

이 無色柱狀結晶 m. p. 182~184°C는 苦味를 띠며

光學的으로 活性($[\alpha]_D^{19}$+3.4°(C=1, $CHCl_3$)이며 元素分析結果 C, H, O, N으로 構成되고 있다. Mass Spectrometry에 依하여 얻은 Mass Spectrogram上의 分子이온 Peak로부터 分子量을 371, 主分子이온 Peak의 Isotope Ratio로부터 分子式을 $C_{23}H_{33}NO_3$로 決定할 수 있었다. 이 物質이 文獻未記載의 것임을 알았음으로 *Spirajine*이라 命名하였다[4].

이 *Spirajine*의 化學構造를 決定하기 爲하여 作用基에 對한 定性反應 UV, IR Spectra 및 Impact Mass Spectrometry에 依한 Fragment 分析, NMR Spectrum 및 Optical Rotatory Dispersion에 依한 實驗値를 얻고 이들 結果로부터 *Spirajine*의 部分構造에 關해 얻은 知見을 여기 報告하는 바이다.

實 驗

(1) 材料 및 裝置

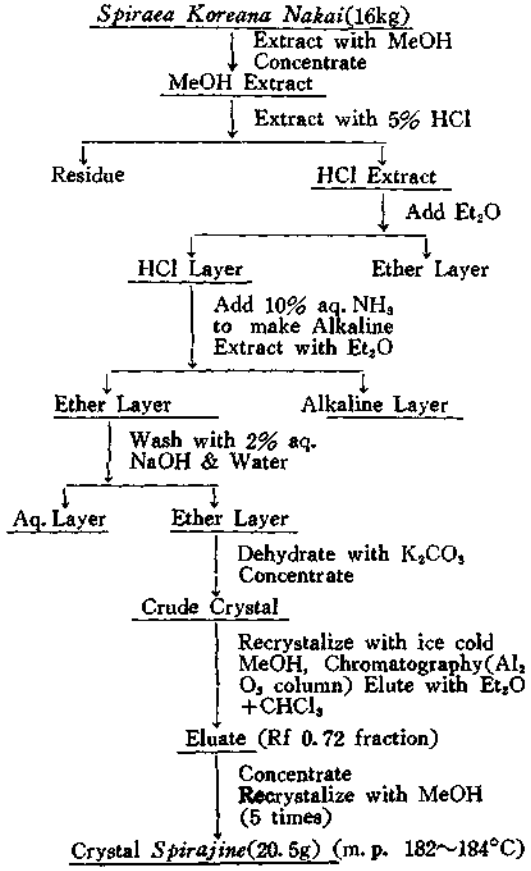
抽出用으로 使用한 메탄올은 工業用을 蒸溜精製한 것이며, 其他 使用한 各種 試藥은 따로 言及하지 않는 限 Chemical Pure 等級의 것들이다. Thin Layer Chromatography에 使用한 n-부탄올 氷醋酸은 Merck製 크로마토用이며, Silica Gel은 日本和光藥品의 Wakogel-B-10 (10% $CaSO_4$)를, Column Chromatography의 吸着劑로는 Merck製 크로마토用 中性 알루미나를 使用했다. 定性의 目的으로 檢討한 알칼로이드 沈澱試藥, Meyer 試藥, Modified Dragendorff 試藥, 呈色試藥, Erdmann 試藥 및 그外 化學反應에 使用한 試藥들은 常法에 따라 調製하였다.

融點의 測定은 Arther H. Thomas Co. Capillary Melting Point의 裝置를 使用했으며 比旋光度는 Lippich Polarimeter 140/70으로, UV Electronic Absorption Spectra는 Beckmann DU Spectrophotometer를, Mass Spectrum은 Mass Range 600, Chamber Voltage 70, Chamber Temperature 240°C, Multiplier 2KV에서 操作한 것이며 Spectrum은 Five Element Galvanometer System으로 記錄한 것이다. NMR Spectrum은 50 Mcps 에서 Tetramethyl Silane을 Internal Reference Standard O ppm으로 하여 Deuterated Chloroform 溶媒에서 測定한 것이다. IR Spectrum은 Perkin Erma의 Infra-cord 및 Beckmann의 IR-4를 使用하였다. Thin Layer Chromatography에 使用한 Applicator 其他 器具는 日本矢澤社製의 것이다.

(2) 實驗 方法

Spirajine의 單離[5] 1966年 6月 大邱附近 八公山에서 收集한 참조팝나무의 粗粹한 風乾葉 16kg을 75% Methanol 80*l*로 48時間 55~65°C에서 溫浸하기를 3回 되풀이 한 것을 合쳐 濾過한 後, 減壓濃縮시켜 黑褐色의 濃縮物 4kg을 얻었다. 여기에 5% HCl 8*l*를 加하여 鹽基性物質을 酸性水溶液으로 抽出轉溶시킨 다음 40°C以下의 溫度에서 4*l*로 濃縮後 濾過한 다음 여기에 Ether를 加하고 振盪시켜 이때 轉溶되는 酸性 및 中性物質을 除去한 다음 10% 암모니아水를 充分히 加하여 알칼리性(약 pH 10)으로 하였다. Ether에 依한 抽出은 Ether 層에 거의 Alkaloid反應이 나타나지 않을 때까지 反復하였다. 抽出한 Ether를 合하여 2% NaOH 水溶液으로 振盪시켜 Phenol性 物質을 除去한 後 Ether를 水洗하고 無水 K_2CO_3로써 乾燥시켰다. 이 Ether 溶液을 蒸發濃縮시켜 微黃色의 固狀粗鹽基를 얻었다. 이것을 메탄올에 溶解시키고 氷水 中에서 再結晶시켰다. 이 粗鹽基의 結晶을 Silica Gel을 使用한 Thin Layer Chromatography에 依하여 檢討한바 n-부탄올-초산-물(4:1:2) 溶媒에서 各各 0.66, 0.72 및 0.77의 Rf値를 가진 세 가지 物質의 混合物임을 알았다.

Scheme 1.
Procedure for the Separation of Spirajine



Thin Layer Chromatography[6] 앞에서 얻은 粗結晶의 1,2片을 少量의 클로로포름에 녹인 것을 試料으로 삼았다. 0.25mm 두께의 Silica Gel 薄層을 만들어 n-부탄올—빙초산—물(4:1:2)의 溶媒系를 展開溶媒로 삼고 12°C에서 上昇法으로 10cm 거리까지 展開시켰다. 發色試藥으로 Dragendorff's 試藥을 噴霧시켰다.

Column Chromatography에 依한 精製 粗結晶을 클로로포름에 녹혀 알루미나 250gr을 길이 38cm로 充塡한 管에 注加하여 吸着시킨 後 에테르—클로로포름(2:1 v/v)으로 展開溶出시키면서 1定量씩 받은 各 溶出液區劃分 中의 成分을 TLC로 檢討하면서 Rf値 0.72의 單一斑點을 나타내는 區劃分의 溶出液을 모아 蒸發濃縮시킨 後 메탄올로써 5回 再結晶시켜 無色의 柱狀結晶 m.p. 182~184°C, 20.5gr을 얻었다. 風乾材料에 對한 收得率은 0.13%였다.

分子式과 分子量 決定 元素定量分析과 毛細管에 依한 分子量의 測定도 併行하였으나 Mass Spectrography에 依해 Parent Ion Peak의 Mass Number로부터 分子量 371을 얻었고 Parent Ion Peak(p)와 Mass Number p+1 및 p+2의 Isotope Ratio로부터 分子式이 $C_{23}H_{33}NO_3$임을 求하였다[7].

作用基의 檢出 作用基의 檢出確認 手段으로는 化學的方法에도 依據하였으나 主로 Mass Spectrography에 依해 70ev 에너지의 電子線으로 토막을 낸 Fragmentation Pattern의 Mass Spectrum의 分析檢討를 爲始하여 UV, IR 및 NMR Spectrum과 더불어 Optical Rotatory Dispersion 等에 依한 分析方法에 依하였다.

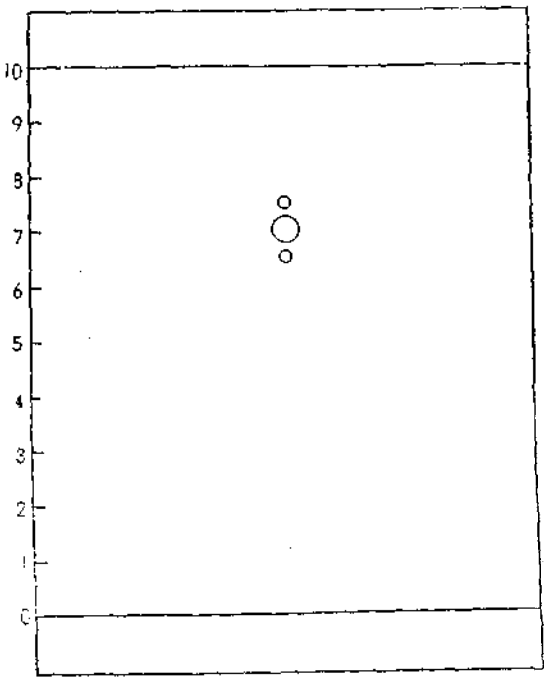


Figure 1. Thin Layer Chromatograms of Alkaloids.
Developing Solvent: BuOH, HAc, H_2O(4:1:2)
Spray Reagent: Dragen Dorff's Reagent

Ⅰ) 第3級 알코올의 檢出反應

a) 試料 0.1g에 2cc의 Nessler's Reagent를 加하여 加熱 1分間 煮沸시켰으나 變化없었다.

b) Denige's의 反應

少量의 試料를 3cc의 Denige's reagent와 加熱 2分間 煮沸시켰더니 黃色沈澱이 生成하였다.

Ⅱ) Carbonyl Group의 檢出反應

Sample 0.1g의 Methanol 溶液에 2.4-Dinitrophenylhydrazine의 試液 10cc를 加하여 2分間 水浴上에서 加溫하였더니 黃赤色의 2,4-Dinitrophenylhydrazone의 沈澱이 生成되었다.

Ⅲ) 二重結合의 檢出反應

少量의 Sample를 $KMnO_4$溶液 및 Br_2溶液에 加하였더니 모두 脫色되었다.

結果 및 考察

참조팔나무에서 分離한 鹽基는 Dragendorff's 試藥陽性이고 Thin Layer Chromatogram(Fig. 1)에 依하여 Rf가 0.66, 0.72 및 0.77의 적어도 3種임을 알 수 있다. 그리고 Rf値 0.66, 0.77의 것은 微量이어서 結晶으로는 아직 얻지 못하였다. Rf値 0.72의 *Spirajine*은 苦味를 가진 無色柱狀結晶(Fig. 2)으로 m.p. 151~153°C(未補正) 比旋光度 $[\alpha]_D^{18}$+3.4°(C=1, $CHCl_3$)인 光學的 活性化合物이다.

數種의 一般 Alkaloid 試藥에 對하여 陽性을 나타냈다. 卽 Meyer's Reagent에 依하여 白色沈澱 Dragendorff's Reagent에 依하여 橙赤色沈澱을 生成하고 濃黃酸에 依하여 熱時 紅色을 Erdmann's Reagent에 依하여 黃色을 나타내고 黃血鹽溶液에 依하여 白色沈澱을 生成하였다. Nessler's Reagent와 加熱煮沸해도 變化없고 Denige's Reagent와 加熱煮沸時 黃色沈澱이 生겼고 Freudenberg 定量法[20]에 依하여 OH基 1個가 있음을 알았다. 2.4-Dinitrophenylhydrazine에 依하여 黃赤色沈澱生成으로 Carbonyl基의 存在를 推測할 수 있었고, 또 $KMnO_4$ 및 Br_2溶液을 脫色시킨다. 以上의 結果들로부터 不飽和結合 >C=O, —OH基를 가진 Alkaloid임을 推測할 수 있다. 元素定性分析 結果 C, H, N를 包含하며 定量分析 結果는 C : 74.86, H : 7.70 N : 3.54였으나 Mass Spectrometry에 依한 값은 Mass Number M/e 371의 分子이온피크로부터 分子量 371로 求한 分子式은 $C_{23}H_{33}NO_3$이다. 2,4-Dinitrophenylhydrazine과 黃赤色 2-4-Dinitrophenylhydrazone을 生成하고 Infra-red Absorption Spectrum(Fig. 2)에 C=O, Stretching Vibrational Peak 1726, 1685 cm^{-1} 등으로 미루

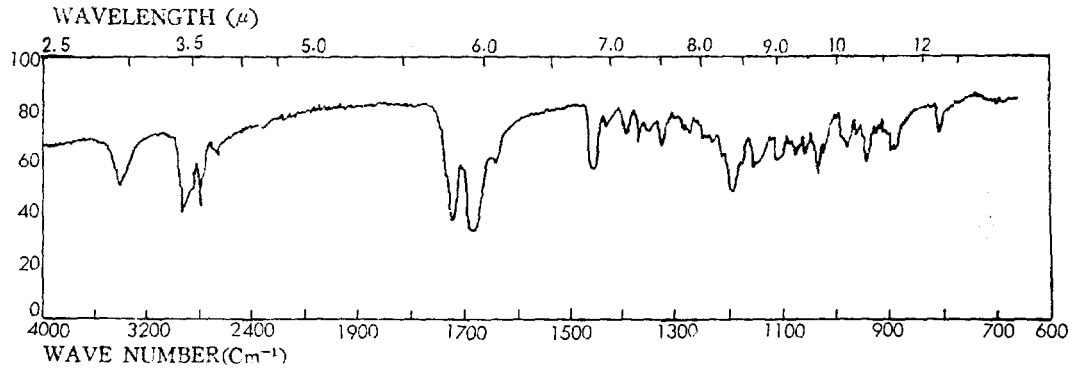


Figure 2. Infra-red Absorption Spectraum of Spirajine(in KBr)

어 적어도 한 개 以上의 Garbonyl Croup의 存在는 確實하다. Ultra-violet Absorption Spectrum의 (Fig. 3) λmax 308mμ의 n→π* 형 電子의 遷移吸收로 보아 C=O 원자 단 中의 적어도 한 개는 한 개 以上의 二重結合이 共軛된 α,β-不飽和 Carbonyl 團의 存在를 알 수 있다. Optical Rotatory Dispersion 曲線(Fig. 4)에서 보여주고 있는 308mμ附近에서의 Positive Cotton Effect와 低振動數쪽으로의 C=O 伸縮振動吸收帶의 移動 1685 cm^{-1}[21],[22]은 1645cm^{-1}의 Cyclohexane의 C=C 伸縮振動, Nuclear Magnetic Resonance Spectrum의 Cyclohexane의 Methylene Proton Resonance Signal(τ:8.55) 등으로부터 α,β-不飽和 Cyclohexenone의 存在를 確認할 수 있다.

Nuclear Magnetic Resonance Spectra (Fig. 5)로부터 Cyclohexane 고리 (τ:8.55 Cyclohexane의 Methylene Proton) 와 Cyclopentane 고리(τ : 8.50 Methylene Proton) 또는 M-methyl Proton(τ:7.84), Allylic 位置의 Methyl Proton(τ : 9.00) 및 Carbonyl Group의 隣接 Methylene(τ : 7.68) 等으로 적어도 2個 以上의 Methyl Group와 Cyclohexane, Cyclohexenone을 갖고 있음이 推測되었다. 또 Cyclohexenone의 C=O 伸縮振動 1685 cm^{-1}과 區別되는 Ketone의 C=O 振動吸收라고 생각되는 1725cm^{-1}로부터 다른 한 개의 C=O 原子團의 存在도 確認할 수 있었다. Infra-red Absorption Spectrum의 3400cm^{-1} 吸收는 OH, NH 伸縮振動이 合致되어 있는

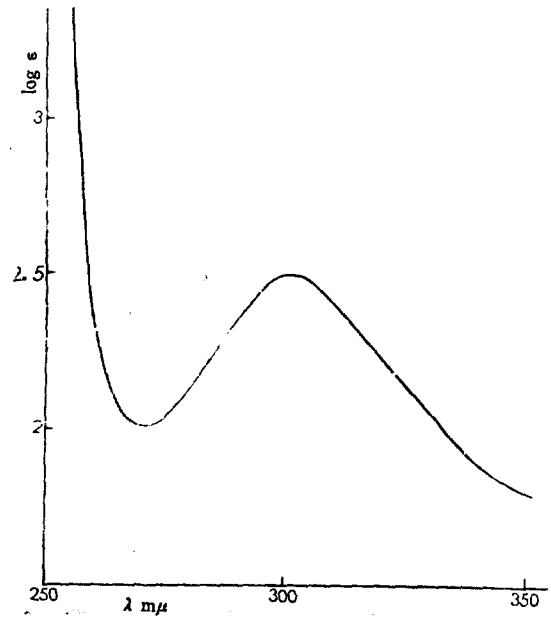


Figure 3. Ultraviolet Absorption Spectra of Spirajine (in EtOH)

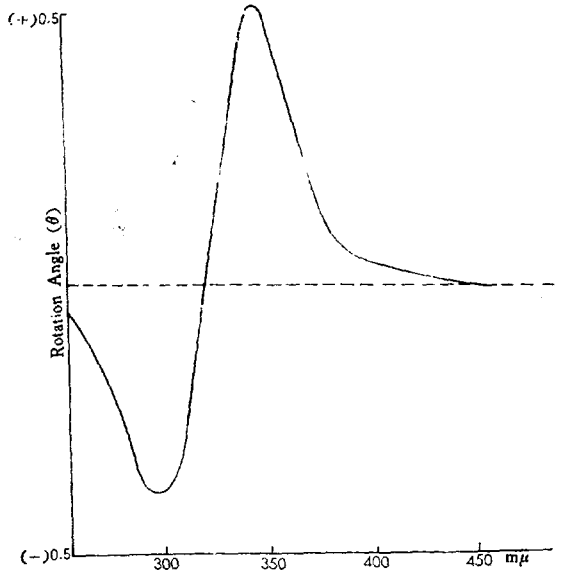


Figure 4. Opitical Rotatory Dispersion of Spirajine

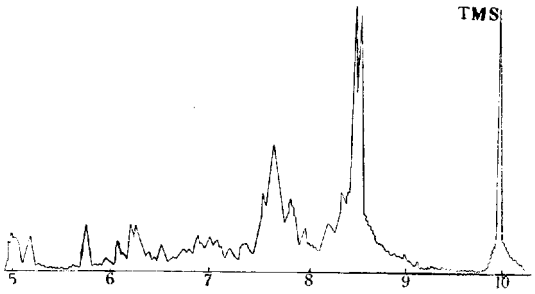
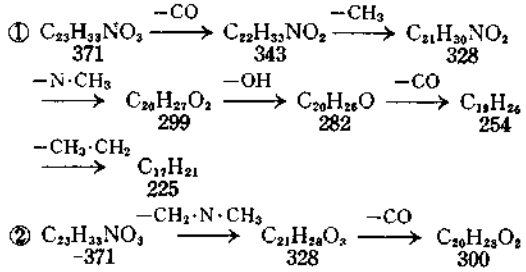
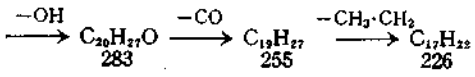


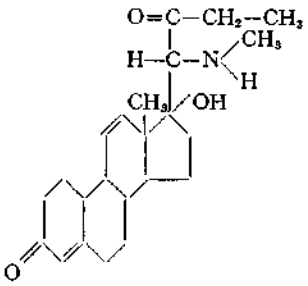
Figure 5. Nuclear Magnetic Resonance Spectra f Spirajine (InCDCl$_3$(

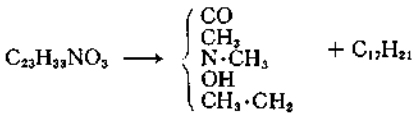
것으로 보며 2750~3000cm^{-1} 사이의 特徵있는 CH振動吸收帶는 Carbonyl Group 領域의 吸領帶와 아울러 Sadtler의 Spectra Data[23]와 比較해서 11-deoxy corticosterone의 Acetate와 매우 닮은 Pattern을 보여주므로 3級알코올基가 있음을 推測할 수 있다. 또 Mass Spectrogram의 主要 Peak(Fig. 6)는 含有되어 있는 作用基 C=O, −OH(3級) −CH$_3$, N−CH$_3$ 等의 다음과 같은 Fragmentation 過程과 잘 一致하므로





다음과 같은 構造를 想定하였다. 이 構造에서 B 고리의 二重結合과 Methyl Group의 位置는 아직 確定지을 수 없으나 作用基로서의 >C=O, −CH$_3$, N−Methyl 및 二重結合의 存在는 確定的이다.





F=4.

本 硏究를 行하는 데 指導 助言하여 주신 서울大學校 師範大學 李泰寧敎授, 慶北大學校 文理科大學 朴斗元敎授와 諸般機器分析 測定의 便宜를 提供해주신 日本 東京大學 藥學部森氏 및 여러 가지 面에서 協助하여주신 本 大學 藥學部 諸 敎授에 深甚한 謝意를 表합니다.

參 考 文 獻

(1) 鄭台鉉譯：國植物圖鑑(新志社 서울 1956)
(2) 安鶴洙·李春寧：韓國植物名鑑(范學社 서울 1963)

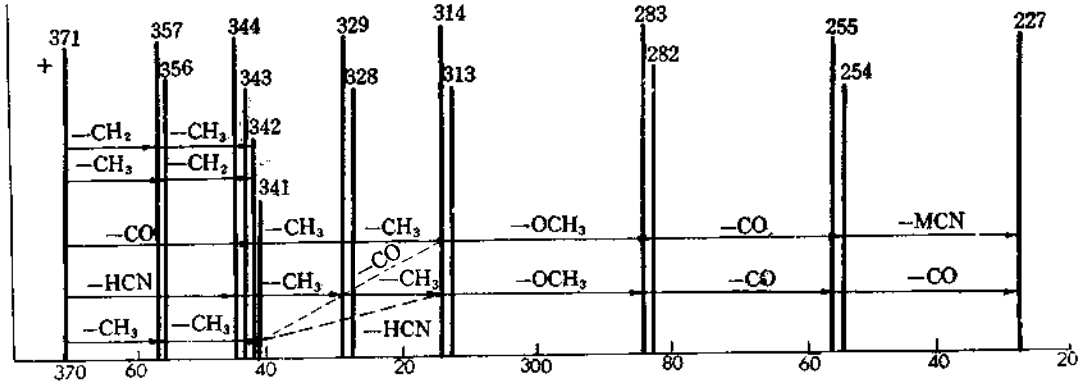


Figure 6. Mass Spectrogram of Spirajine

(3) 陳甲德·張億奎：大邱大學論文 6集 571(1966)
(4) 刈米達夫：植物成分文獻集((1957—1962) (廣川書店 1964)
(5) T. Nakano, S. Terao, Y. Saeki and K. D. Jin: *J. Chem. Soc.* (London) 1805 (1966)
(6) Eand M. Lederer: Chromatography(Elserier publishing Co. 1955)
(7) George H. Stout: Composition Table (Benzamin Inc, New York. 1963)
(8) Silverstein R. M. Bassler. G. C: Spectrometric Identification of Organic Compounds (John Wiley, New York 1963)
(9) Bieman, V.: Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications (McGrow Hill. New York. 1962)
(10) 佐佐木慎一：マススペクトル解說(廣川書店 東京 1965)
(11) Bellamy: The Infra-red Spectra of Complex (John Wiley, New York. 1957)
(12) 通和夫·近藤榮二：日化 87. 1117 (1966)
(13) 立松晃·後藤俊夫·松浦貞郎：日化 87, 1226 (1966)
(14) 龜浦潔·山本稔：日本藥誌 86, 1086 (1966)
(15) 伊藤磯雄·村上彰治·田邊惠一：日本藥誌 86, 300 (1966)
(16) 古川宏·盧盛德：日本藥誌 86, 1143 (1966)
(17) Robert: Nuclear Magnetic Resonance. McGraw-Hill, New York (1959)
(18) 岩佐準三·成戶後介：日本藥誌 86, 385 (1966)
(19) 濱本要·堀木樟夫·池上昭子·武田健： 日本藥誌 86, 558 (1966)
(20) Fredudenberg, Ann, 433 230(1923)
(21) Dobriner. Kand Katzenellenbogen. E. R. & Jones, R. K. "Infra-red Spectra of Steroids" (1953)
(22) Jones, R. N, Dobriner, K. L: Vitamin and Hormon Ⅱ 293(1949)
(23) Samwel P. Sadtler: Catalog of Infra-red Spectrogarm (Philadel Phia Penn, U. S. A)