

豨薟의 新 Diterpene Glycoside 의 化學構造에 關하여

金 濟 勳

(Received May 27, 1972)

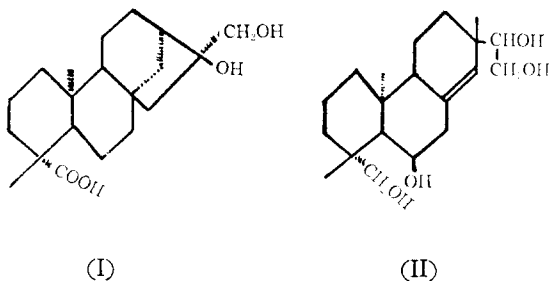
Jae Hoon Kim: A new Diterpene Glycoside with Darutene Skeleton.

A new diterpene glycoside, $C_{26}H_{44}O_8 \cdot H_2O$, m.p. 225—6°, $[\alpha]_D^{20} = -48^\circ$ (0.1% in EtOH) was isolated from methylalcohol extract of *Siegesbeckia pubescens* MAKINO which has been used as a folk remedy for hypertensive in Korea and its chemical structure was established as (III).

著者들은 民間에서 血壓降下劑로 使用하는 豨薟 *Siegesbeckia pubescens* MAKINO (Compositae)¹⁾의 成分研究에 있어서 Compound A 및 B의 2種成分을 分離하였다.

그중의 한 成分인 Compound B에 對하여서는 韓²⁾이 그 化學構造를 究明하여 Jefferies³⁾ 등이 *Beyeria*屬 植物에서 單離한바 있는 16,17-dihydroxy-16- β (-)-kauran-19-oic acid (I)임을 證明하였으며 아울러 이 物質의 生理作用에 對한 研究結果를 發表하였다.

Compound A에 對하여서는 著者和 共同研究者¹⁾에 依하여 그 化學構造가 (II)임을 決定하여 發表하였다.



著者는 上記植物에서 新成分 $C_{26}H_{44}O_8 \cdot H_2O$, (III) {m.p.225—6° $[\alpha]_D^{20} = -48^\circ$, ir $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$;

* Natural Products Research Institute, Seoul National University.

3330(OH), nmr(δ); 5.2(bs. $>C=HC-$), 8.83, 1.05(CH₃)을 分離하였다.

本物質(III)을 pyridine 溶液에서 acetic anhydride로 acetylation하여 hexaacetate C₃₈H₅₆O₁₄ (IV) {m.p.128°, $[\alpha]_D^{20} = -43.2^\circ$, ir ν_{max}^{KBr} cm⁻¹; 1735, 1240(O=C—O—), nmr(δ); 5.3($>C=HC-$), 0.85, 1.035(CH₃)}를 얻었다.

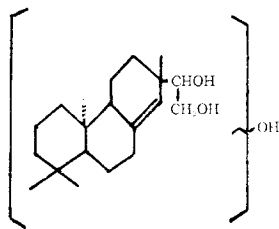
또한 本物質(III)을 β -glucosidase 로 加水分解할때 1 mole 의 glucose (glucosazone C₁₈H₂₂N₄O₄ m.p. 208°)와 aglycone C₂₀H₃₄O₃ (V) {m.p. 163°, $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$, ir ν_{max}^{KBr} cm⁻¹; 3280(OH), nmr(δ); 5.2(bs. $>C=HC-$), 0.83, 1.0(CH₃)}로 分解되었다.

HIO₄ 로 aglycone(V)을 酸化하면 nor-aldehyde C₁₉H₃₀O₂ (VI) {m.p. 114.5°, $[\alpha]_D^{20} = -77^\circ$, ir ν_{max}^{KBr} cm⁻¹; 3280(OH) 1715(O=C—H), 2720(—CHO : δ CH), nmr(δ); 9.45(C—CHO)}를 生成한다.

Nor-aldehyde (VI)는 Huang-Minlon reduction 에 依하여 6- β -hydroxy-nor-darutene C₁₉H₃₂O (VII) {m.p.137.5°, $[\alpha]_D^{20} = -40^\circ$, ir ν_{max}^{KBr} cm⁻¹; 3200(OH), nmr(δ); 5.2(bs. $>C=HC-$), 0.80, 0.81, 0.92, 1.0(CH₃)}를 生成하고, 또 이것은 Sarrett oxidation 에 依하며 6-keto-nor-darutene C₁₉H₃₀O(VIII) {m.p.97-8°, $[\alpha]_D^{20} = -43.5^\circ$, ir ν_{max}^{KBr} ; 1695($>C=O$), nmr(δ); 0.95, 0.97, 1.0, 1.08(—CH₃), 5.27(bs. $>C=HC-$), 2.89, 2.66 (J=12.75 c/s, 1H, part A of an AB system)}을 生成하였다.

6-Keto-nor-darutene (VIII)은 Huang-Minlon reduction 에 依하여 炭化水素 C₁₉H₃₂(IX) {m.p. 42°, $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ }를 生成하였으며 이것은 Compound A 에서 誘導한 authentic hydrocarbon (nordarutene) C₁₉H₃₂(X) {m.p. 42°, $[\alpha]_D^{20} = -28.72^\circ$ }과 混融하여도 m.p. 의 降下가 없었고 gas chromatography 에서도 retention time 이 一致하였다.

따라서 本配糖體(III)의 aglycone 은 darutene skeleton 을 갖인 diterpene 으로서 이에 對하여 다음과 같은 partial structure 를 推定하였다.



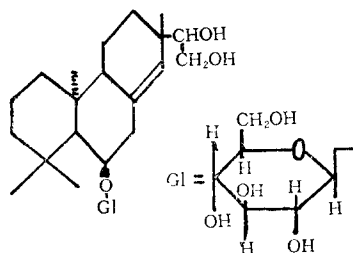
本物質(III)을 triphenylchloromethane 으로 處理하여 ditritylether C₆₄H₇₂O₈(XI)m.p. 115-6°, $[\alpha]_D^{20} = -91.85^\circ$ 을 얻고, 또 HIO₄ 酸化에 依하여 formaldehyde⁴⁾를 生成하였다.

本物質(III)을 無水 CuSO₄ 存在下에 acetone 을 作用시켜 얻은 acetonide 를 HIO₄ 로 酸化시킨다음 KOH 로 加水分解한것과 이와 別途로 本物質(III)의 aglycone (V)을 無水 CuSO₄ 存在下에 acetone 을 作用시켜 얻은 acetonide (XII)와 同一한 物質임을 TLC 에서 同定할수 있었다.

上記한 dinitrilether 와 HCHO 의 生成 및 TLC 上의 所見을 綜合하여 볼때 glycol radical 의 水酸基에는 糖이 結合되어 있지 않음을 斷定할 수 있다.

6-Keto-nor-darutene(VIII)의 nmr spectrum 에 있어서 2.89 및 2.66 의 2個의 peak 는 carbonyl function 과 trisubstituted double bond 와의 兩側에 隣接되어있는 allylic methylene group 의 proton 에 歸屬시킬수 있는 것으로 이 nmr 所見에 依하여 secondary hydroxyl function 은 C₆에 結合되어 있음을 推定할수 있으며 더욱이 이 事實은 Compound A acetonide 의 tosylate (XIV)를 LiAlH₄로 還元하여 얻은 compound (XV)와 aglycone acetonide (XII)가 thin layer chromatography에 依하여 同一함으로서 充分히 뒷받침 되고 있다.

同時에 糖은 C₆에 結合되어 있음을 알수 있으며 따라서 本物質(III)의 化學構造는 다음과 같이 推定하며 glycoside 및 aglycone 의 各種誘導體는 Chart 1 에 表示하였다.



(III)

實 驗

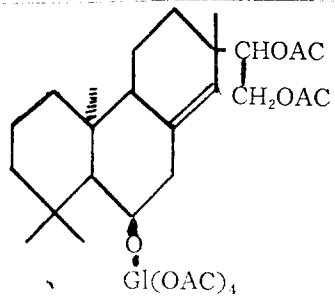
Gas chromatography 에는 Yanagimoto GCG-5DH 型을 使用하였으며, ir 은 Japan Spectroscopic Co., Ltd. IR-S 型을 使用하여 KBr-disk 로 測定하였다. nmr 은 Jeol, JNM-C-60HL 型을 使用하여 CDCl₃ 溶媒에서 測定하고, 旋光度는 Shimazu Spectrophotometer QV-50 型用 Polarization Apparatus을 使用하여 EtOH 溶媒에서 測定하였다. 모든 融點値는 補正치 없었다.

Extraction and Isolation of Glycoside (III)—材料 5kg 을 18l 의 MeOH 로 冷浸하여 一週 日間放置하고 浸液을 濾過, MeOH 를 完全히 溜去한다. MeOH extract 를 물에 溶解시키고 Et₂O 로 抽出하고 水層을 butanol 로 抽出하여 butanol 을 完全히 除去하고 물에 다시 溶解시켜 沈澱이 더 生成되지 않을 때까지 NaOH 水溶液을 注加하여 約 20時間 放置하고 이를 分離하여 沈澱物을 물로 洗滌한 다음 column chromatography (Al₂O₃ neut. II solvent EtOH)에 依하여 物質(III)의 結晶을 얻었다(Chart 2)

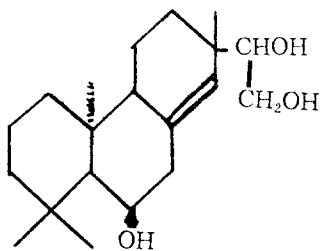
m.p.225—6°, $[\alpha]_D^{20} = -48^\circ$ (c, 0.1), ir $\nu_{max}^{KBr} \text{ cm}^{-1}$; 3330(OH), nmr(δ); 0.83, 1.05(-CH₃), 5.2(bs.>C=CH-),

Anal. Calcd. for C₂₆H₄₄O₈ · H₂O: C; 62.15, H; 9.16, Found: C; 62.06, H; 9.21.

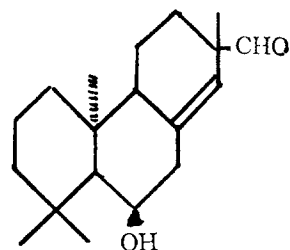
Hexaacetate (IV)—物質(III)을 pyridine 5ml 에 溶解시키고 acetic anhydride 3ml 를 注



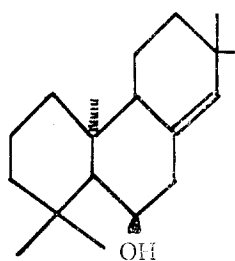
(IV)



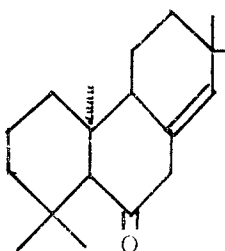
(V)



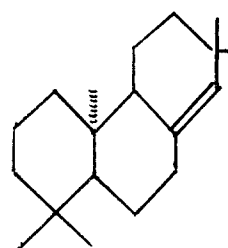
(VI)



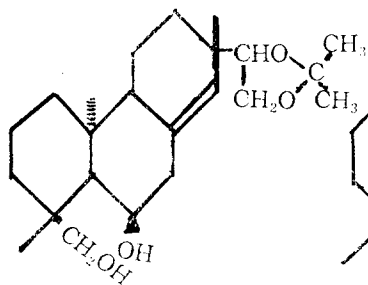
(VII)



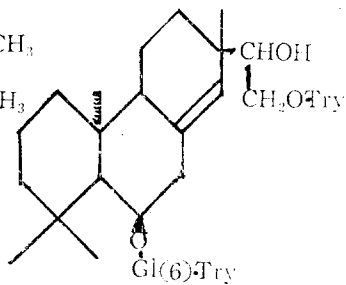
(VIII)



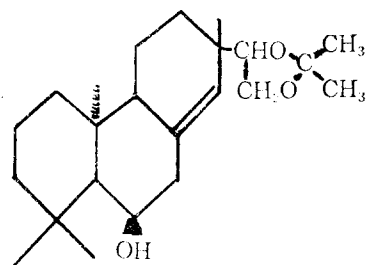
(IX, X)



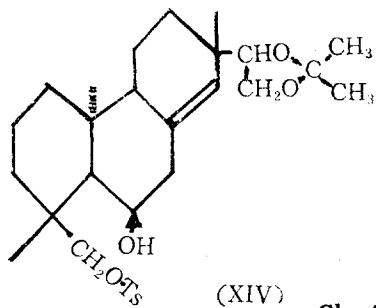
(XIII)



(XI)



(XII, XV)

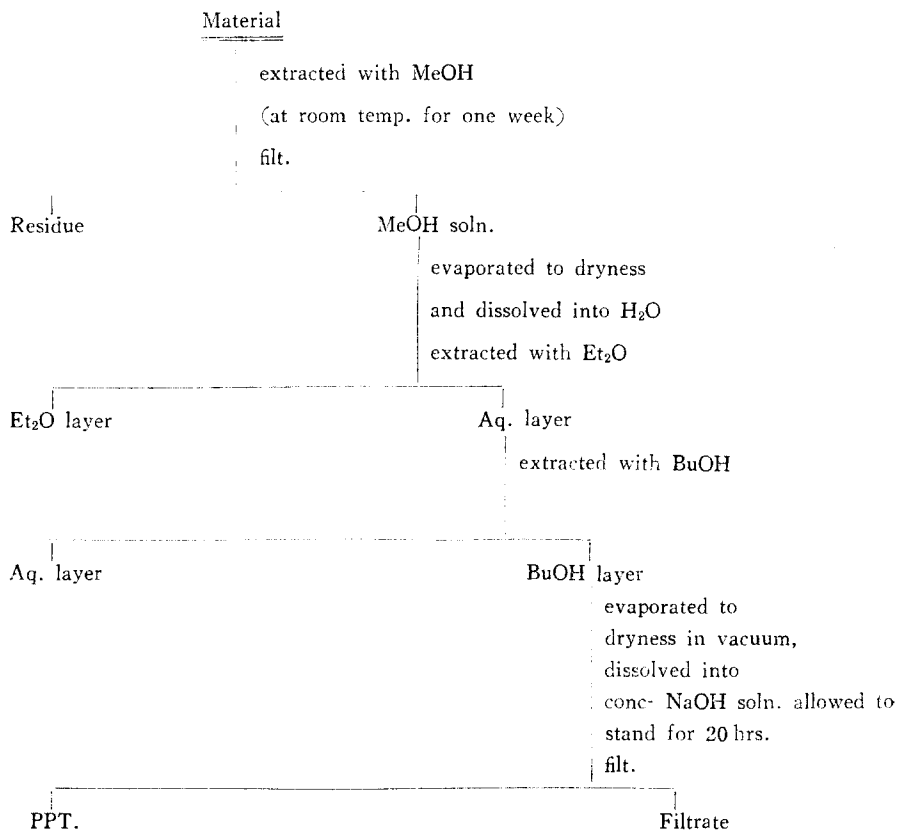


(XIV)

Try = $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}-$

Ts = $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2$

Chart 1 Derivatives of glycoside and aglycone.



washed with H₂O, recryst. with hot H₂O, separated by aluminum oxide (II), solvent system EtOH, m.p. 225~226°

Chart 2 Extraction and isolation of glycoside (III).

加하여 5日間 室温에 放置시킨 後 反應液을 多量의 氷水에 注加하여 生成된 沈澱을 濾取하고 EtOH에서 再結晶하였다. m.p. 128°, $[\alpha]_D^{20} = -43.2^\circ$ (c, 0.2), ir ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹; 1735, 1240 (O=C—O—), nmr(δ): 5.3(bs.>C=HC—) 0.85, 1.03(CH₃)를 얻었다.

Anal. Calcd. for C₃₈H₅₆O₁₄: C;61.96, H;7.61, Found: C;62.36 H;7.69.

Hydrolysis of Glycoside—物質(III) 5g을 Cl⁻이 陰性인 蒸溜水 10l에 溶解하여 β -glucosidase (Worthington Biochemical Corporation New Jersey) 500mg을 加하여 36°에서 60時間 incubation 시킨 다음 水浴上에서 蒸發濃縮한 것을 silica gel column chromatography (solvent system CHCl₃:MeOH:H₂O=75:25:1.5)에 依하여 aglycone (V)을 分離하여 EtOH로 再結晶하였다. m.p. 163°, $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$ (c, 1.0), ir ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹; 3280(OH). nmr(δ): 5.2 (bs.>C=HC—), 0.83, 1.0 (CH₃).

Anal. Calcd. for $C_{20}H_{34}O_3$: C; 74.53, H; 10.56, Found: C; 74.54, H; 10.69.

Glucosazone—糖液(前記加水分解)에 鹽酸 phenylhydrazine 과 NaAc 을 alcohol 溶液으로 하여 水浴上에서 約 2 時間 還流한 다음 冷却하여 析出된 結晶을 EtOH 로 再結晶하였다.

m.p. 208°.

Anal. Calcd. for $C_{18}H_{22}N_4O_4$: C; 60.32, H; 6.19, N; 15.63, Found: C; 60.31 H; 6.20 N; 15.00.

Nor-Aldehyde (VI)—Aglycone(V) 1g을 EtOH 70ml 에 溶解하고 $NaIO_4$ 1.8g 을 10ml 의 물에 溶解하여 注加하고 室溫에서 暗所에 約 16 時間 酸化시켰다. 反應物을 8% $NaHCO_3$ 500ml 에 注加하고 Et_2O 로 抽出하여 水洗, 脫水(無水芒硝) 한 다음 Et_2O 層을 溜去하고 Et_2O 로 再結晶하였다. m.p. 114.5°, $[\alpha]_D^{20} = -77^\circ$ (c, 1.0), $ir \nu_{max}^{KBr} \text{ cm}^{-1}$; 3280(OH), 1715 ($O=C-H$), 2720($---CHO: \delta CH$), $n_{mr}(\delta)$; 9.45 ($-CHO$).

Anal. Calcd. for $C_{19}H_{30}O_2$: C; 78.62, H; 10.34, Found: C; 78.67, H; 10.32.

6- β -Hydroxy-nor-Darutene (VII)—nor aldehyde (VI) 500mg을 diethyleneglycol 에 溶解시키고 24% $-NH_2NH_2$ 15ml 및 4.5g 의 KOH 를 加하여 124°에서 2 時間 還流시키고 冷却器의 물을 斷水하여 205°가 된 다음 다시 還流하여 約 4 時間 加熱反應시켰다.

이 反應物을 多量의 물에 注入하고 HCl 로 中和한 後 Et_2O 로 抽出하여 Et_2O 層을 分取 脫水溜去한 다음 EtOH 로 再結晶하였다.

m.p. 137.5°, $[\alpha]_D^{20} = -40$, $ir \nu_{max}^{KBr} \text{ cm}^{-1}$; 3200($-OH$), $n_{mr}(\delta)$; 5.2(bs. $>C=HC-$) 0.80, 0.81, 0.92, 1.0($---CH_3$).

Anal. Calcd. for $C_{19}H_{32}O$: C; 82.61, H; 11.59, Found: C; 82.82, H; 11.56.

Nor-6-Keto-nor-Darutene (VIII)—6- β -hydroxy-nor-darutene (VII) 350mg을 小量의 pyridine 에 溶解시키고 Sarrett-reagent 10ml 를 注加하여 Et_2O 로 抽出하고 Et_2O 層을 5% HCl 約 300 ml 로 洗滌하여 pyridine 을 除去한 다음 $NaHCO_3$ 水溶液으로 中和, 水洗, 脫水하고 Et_2O 를 溜去後 EtOH 로 再結晶하였다.

m.p. 97-8°, $[\alpha]_D^{20} = -43.5^\circ$ (c. 1.0), $ir \nu_{max}^{KBr} \text{ cm}^{-1}$; 1695 ($>C=O$), $n_{mr}(\delta)$; 0.95, 0.97, 1.0, 1.08($-CH_3$), 5.27 (bs. $>C=HC-$), 2.89, 2.66 ($J=12.75$ c/s 1H, part A of an AB system).

Anal. Calcd. for $C_{19}H_{30}O$: C; 83.21, H; 10.95, Found: C; 83.19, H; 10.87.

Hydrocarbon (IX)—6-keto-nor-darutene (VIII) 150mg을 diethyleneglycol 에 溶解시키고 24% NH_2-NH_2 7ml 및 2g 의 KOH 를 加한 後 124°에서 2 時間 還流시킨 다음 冷却器의 물을 斷水하고 205°로 上昇시켜 다시 約 4 時間 還流시킨 것을 多量의 물에 注入한 다음 HCl 로 中和하여 EtOH 로 抽出하고 Et_2O 層을 分取 洗滌, 脫水, 溜去하여 Et_2O 로 再結晶하였다.

m.p. 42°, $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ (c, 1.0), $ir \nu_{max}^{KBr} \text{ cm}^{-1}$; 1680, 865, 860 ($\begin{matrix} R \\ | \\ >C=C < \\ | \\ H \end{matrix} R''$)

Anal. Calcd. for $C_{19}H_{32}$: C; 87.69, H; 12.31, Found: C; 87.67, H; 12.20.

이 hydrocarbon (IX)을 混融試驗과 GLC (stainlesssteel column, 4mm \times 1.5mm 3% SE-30

on celite, programming temp. 216–250° (8°/min), carrier gas N₂(2.5ml/min); *t_R* 3.6 hydrocarbon; *t_R* 3.6 nor-darutene)에 의하여 Compound A 로 부터 誘導한 authentic nordarutene (X)⁵⁾과 同一함을 確認하였다.

Ditritylether (XI)—物質(III) 500mg을 pyridine 에 溶解시키고 triphenylchloromethane 1g 을 5ml 의 pyridine 에 녹여서 注加하고 5日間 室溫에서 放置하여 反應시켰다. 反應液을 氷水에 注入하고 CHCl₃ 로 抽出하였다.

CHCl₃ 層을 分取, 溜去하여 無定形의 物質을 얻었다. 이 物質을 silica gel column chromatography (solvent system; CHCl₃:EtOH=1:1)에 依하여 分離精製하였다.

m. p.115–6°, $[\alpha]_D^{20} = -91.85^\circ$ (c, 0.2), ir ν_{max}^{KBr} cm⁻¹; 3340(—OH), 3000, 1590, 1490, 1750, 700 (benzene CH stretching)

Anal. Calcd. for C₆H₇₂O₈: C; 79.34, H; 7.44, Found: C; 79.50, H; 7.70.

Glycoside(III)의 酸化(HIO₄)—本物質(III) 80mg을 稀 EtOH 60ml 에 溶解하고 NaIO₄ 溶液(214mg 을 물 40ml 에 溶解한 것)을 注加하여 20分間 暗所에 放置後 0.1N NaOH 로 中和한 다음 0.02N As₂O₃ 200ml 을 注加하여 1時間 室溫에 放置하였다. 2N HAc 를 注加하여 pH 4 로 하고, 이 反應液과 同量의 buffer solution (2N NaAc : N HCl=1:1)을 加한 다음 計算量의 3倍의 0.4% dimedone 을 加하여 一晝夜 放置後, 生成된 methylene-bis-methone 을 濾別하여 MeOH-H₂O 로부터 結晶하였다. m.p.188°. 이 methylene-bis-methone 은 authentic sample 과의 混融試驗과 TLC 에 依하여 同一하므로 formaldehyde 의 生成을 確認하였다.

Aglycone Acetonide(XII)—Aglycone (V) 70mg을 脫水 acetone 30ml 와 無水 CuSO₄ 400mg 을 20時間 水浴上에서 還流하여 反應시킨 다음 acetone 을 溜去하고 다시 Et₂O 로 抽出하여 溶媒를 除去한 殘留物을 silica gel column chromatography (solvent system; CHCl₃:MeOH=9:1)에 依하여 結晶을 얻었다. m.p. 98.5°.

Anal. Calcd. for C₂₃H₃₈O₃: C; 76.24, H; 10.50, Found: C; 76.22, H; 10.45.

Glycoside Acetonide 의 HIO₄ 酸化에 依한 脫糖—本物質(III) 100mg와 脫水 acetone 100ml, 無水 CuSO₄ 1g 을 加하여 20時間 水浴上에서 還流 反應시킨 다음 acetone 을 溜去하고 Et₂O 로 抽出하여 溶媒를 除去한 殘留物을 silica gel column chromatography (solvent system; CHCl₃:MeOH=9:1)에 依하여 單一物質(m.p.152–3°)을 얻었다.

이 物質 50mg을 alcohol 70ml 에 溶解하고 M/20 NaIO₄ 20ml 를 加한 다음 18時間 放置後 NaHCO₃ 의 飽和溶液을 注加하고 Et₂O 로 抽出하였다.

Et₂O 層을 分取하여 洗滌, 脫水後 溶媒를 除去한 殘留物을 EtOH 에 溶解한 다음 5% KOH 를 加하고 水浴上에서 2時間 還流한다. 5% HCl 로 中和하고 Et₂O 로 抽出한다. Et₂O 層을 分取하여 洗滌, 脫水後 溶媒를 除去한 殘留物은 TLC (solvent system; CHCl₃:MeOH=9:1)에 依하여 aglycone 의 acetonide 와 同一함을 認定하였다.

Compound A Acetonide (XIII)—Compound A (II) 370mg을 脫水 acetone 150ml 와 無水 CuSO₄ 5g 을 加하여 還流下에 20時間 反應시켰다.

過剩의 acetone 을溜去한 殘渣를 Et₂O 로抽出하고 Et₂O extract 를 silica gel column chromatography (solvent system; CHCl₃ : MeOH=9 : 1)에 依하여 分離한 物質을 EtOH 로부터 結晶시켜 無色板狀結晶 [m.p. 164—5°, [α]_D²⁰—44°(c. 1.0)]을 얻었다.

Anal. Calcd. for C₂₃H₃₈O₂ : C; 73.02, H; 10.05. Found: C; 72.90, H; 10.33.

Tosylate of Compound A Acetonide (XIV)—Compound A acetonide (XIII) 370mg와 *p*-toluene sulfonyl chloride 200mg 을 dry pyridine 에 녹힌 다음 冷却(0°)하면서 *p*-toluene-sulfonyl chloride 를 加하여 反應시켰다. 反應物을 冷却한 稀黃酸에 注入하고 Et₂O 로抽出한다.

Et₂O 層을 分取하여 물, 8% NaHCO₃ 溶液, 물의 順序로 잘 洗滌, 脫水하고, solvent 를溜去한 殘留物을 silica gel column chromatography (solvent system; benzene : Et₂O=5 : 4)에 依하여 無色の 無晶形 物質을 얻었다. m.p. 100°(dec.), ir ν_{max}^{KBr} cm⁻¹; 3300(OH), 1650(*iso*-propyridene ether), 1175, 1185(S=O). nmr(δ); 1.00, 0.90 (CH₃), 4.1, 3.89 (J=9 c/s, —CH₂—O—Ts).

Anal. Calcd. for C₃₀H₄₄O₆S : C; 67.67, H; 8.27, S; 6.01, Found: C; 67.57, H; 8.25, S; 6.25.

Compound (XV)—Compound A acetonide 의 tosylate (XIV) 60mg을 benzene-ether (1 : 1) 7.5ml 에 溶解하고 LiAlH₄ 50mg 을 加하여 18時間 계속 還流한 後 過剩의 LiAlH₄ 을 N H₂SO₄ 로 分解하고 benzene-ether 層을 分取하여 물로 洗滌, 脫水하여 溶媒를 除去한 殘留物을 silica gel column chromatography (solvent system; CHCl₃ : MeOH=9 : 1)에 依하여 結晶을 얻었다. m.p. 98.5°.

이 物質 (XV)은 混融試驗 및 TLC (solvent system; CHCl₃ : MeOH=9 : 1)에 依하여 aglycone acetonide (XII)와 同一 物質임을 確認하였다.

本研究을 施行함에 있어서 始終一貫 指導하여주신 서울大學校生藥研究所 韓龜東教授와 所長 禹麟根教授께 深謝하며 實驗을 助力하여준 吳世宗學士에게 感謝드립니다.

또한 研究費의 一部는 文教部研究助成費로서 充當하였음을 밝히고 謝意를 표한다.

文 獻

1. K.D. Han and, J.H. Kim, *Tetrahedron Letters* 54, 4801 (1969)
2. K.D. Han *Sixtieth Birthday Commemorative Issue* 53(1969)
3. P.R. Jefferies, *Aust. J. Chem.* 18, 144(1965)
4. S. Fujibayashi, 生物化學實驗法 XI. (1968) (別册蛋白質核酸酵素)
5. A. Diara, et. al., *Bull. Soc. Chim. Franc.*, 2172(1960)