

스테비아의 成分에 關하여

姜 孝 源

(建國大 教授)

緒 論

南美 파라과이産의 植物 *Stevia rebaudiana* Bertoni의 成分인 Stevioside는 雪糖의 約 300倍의 甘味를 가지고 새로운 甘味資源으로서 연구되고 있다.

乾葉 1kg에서 60~70g의 Stevioside를 얻을 수 있다. 이것은 一種의 配糖體이다. Stevioside는 白色 粉末이며, 熱, 酸, alkali에도 安定하고, 맛도 雪糖과 비슷하다. 苦味나 뒷맛도 없다.

1.1 主 甘味成分 스테비오사이드(Stevioside)의 化學構造

Stevia rebaudiana Bertoni의 化學的 成分의 研究에 關해서는 이 植物의 植物學的인 研究의 開始에 이어 1900年代의 初부터 行해져 왔었으나, 보다 正確한 研究가 진척된 것은 1955年 Wood 등의 일을 契機로 하고 있으며, 그後 1963年 Mosettig 등의 group에 의하여 主成分 stevioside (1)의 構造가 解明되었다. 1970年에는 東京大學 農學部の 森 등에 의하여 1의 aglucone의 steviol (2)의 全合成도 行하여 졌다.

이 節에서는 Wood 등의 報告 以前의 것은 歷史的인 것으로서 簡單하게 言及하고, 그 以後에 關해서 詳述하기로 하고자 한다. 即, Wood 등은 主로 配糖

體의 糖部分의 構造를 中心으로 研究를 進行시켰으며, Mosettig 등은 aglucone部分의 構造 研究를 進行한 點으로 보아 이에 따라서 記述하기로 한다.

1.1.1. 스테비오사이드의 歷史的 研究에 關하여

가장 오래된 *Stevia rebaudiana*의 化學成分의 研究에 關하여서는 파라과이의 Jimenez에 의하면, 이 植物에 關하여서 처음으로 植物學的인 研究를 한 파라과이의 博物學者 Bertoni로 부터 이 植物을 入手한 同國의 化學者 Rebaudi가 1900年 行한 化學的 工業的 研究가 그것이라 하고 있다.¹⁾

이때, 甘味の 主成分은 甘草의 成分인 Glycyrrhizin과 비슷한 配糖體인 stevin이라 부르는 物質이라 報告하고 있으며, 이 甘味物質이 醫療上 重要한 것이 된 것이다 라고 指摘하고 있다. 이어 1908年 獨逸의 化學者 Rasenack는 甘味成分을 結晶狀으로 單離하였다.²⁾ 그는 熱 알코올로서 일을 抽出하였으며, 에테르로서 沈澱시켜 20~26%의 粗抽出物을 얻었다. 이 部分을 메타놀로서 再結晶하여 融點 200~210° (分解)에서 元素分析值가 $C_{42}H_{72}O_{21}$ 와 一致하는 結晶을 얻었다. 이 物質은 甘草의 成分과 比較하여 各種 重金屬鹽을 만들지 않는다는 등의 點으로 보아 상당히 틀리는 物質일 것이라고 記述되어 있다.

翌年 Dieterich는 잎과 줄기를 몰로서 抽出하여

抽出物을 無水알코올에 對하여 녹는 것과 녹지 않는 것으로 나누어, 前者는 結晶化하여 eupatorin이라 부르고, 後者인 非晶形 物質을 rebaudin이라 불렀다²⁾ 兩者는 더 이상 分析되지는 아니 하였다.

其後, 1931년에 이르러, 佛蘭西의 藥學者인 Bridel과 Lavi-eille³⁾는 Dieterich가 얻은 成分 eupatorin을 stevioside라 改名하였으며, 여기에서 비로소 stevioside의 이름이 登場하였다.

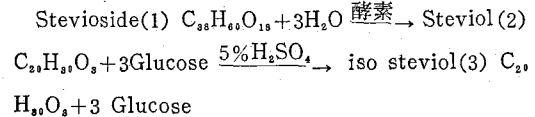
그들은 잎을 70°C에서 알코올로서 抽出하여, 鉛鹽을 加하여 精製하고, 그 위에 메타놀과 알코올로서 再結晶을 되풀이하여 乾燥葉 1kg으로 부터 60g의 結晶을 얻었다. 無色の 吸濕性을 갖는 結晶이며, 低濃度에서는 強한 甘味를 갖지만, 高濃度에서는 苦味를 나타내며 時間에 따라서도 험사리 없어지지 않는다는 것이었다. 또 Dieterich가 말하는 rebaudin이라는 化合物은 Stevioside의 不純한 것일 것이다 라고 말하고 있다. 이 配糖體는 emulsion, rhamuodiastase, 乾燥酵母, Aspergillus niger末 등의 各種 酵素에 對하여 抵抗하였지만, 어떤 種類의 달팽이(Helix Pomatia)의 消化液 및 脾液에 의하여 쉽게 加水分解되며, 3mol에 相當하는 glucose를 結晶으로서 單離하였으며, 또 $C_{22}H_{34}O_8$ 의 組成을 갖는 에테르可溶인 結晶 aglucone의 Steviol (2) (mp·217°, 比旋光度 94.66°)를 얻었다. Stevioside(1)은 그 때의 濕度에 의하여 水和物을 만들며, 正確한 元素 分析이 되어있지 않았으나, 이 加水分解에 의하여 Stevioside(1)은 Steviol(2)에 3分子의 glucose가 縮合한 配糖體이며 分子式 $C_{38}H_{58}O_{18}$ 로 決定되었다.

이 Steviol(2)은 alkali에 녹으며, 그 위에 過剩의 alkali에는 炭酸 gas를 放出하면서 分解하는 事實로부터 酸性物質임을 알았다.

그리고 (1)은 5% 黃酸으로 處理하면 加水分解되어서 3mol의 glucose와 aglucone이 얻어졌으나, 이

*Hodge와 Inglet에 의하면, Stevioside라는 名稱은 1921年 國際聯合會에 의하여 S rebaudiana로부터 單離되는 甘味를 갖는 結晶性 配糖體에 依하여 命名하였다고 되어 있다. Symposium Report on Sweeteners at the 165th meeting American Chemical Society, Dallas, Texas, April, 1973.

때 얻어진 aglucone은 Steviol(2)과 融點(234°), 比旋光度(-78.24°), 結晶形에 差違가 있어서 isosteviol (3)이라 하였다. Steviol(2)을 5% 黃酸으로 處理하여도 isosteviol(3)으로 變化되는 것을 알 수 있었다.



以上 記述한 것과 같은 經過로서 Stevioside(1)의 分子式이 겨우 決定되고 나서 다시금 다음 段階로 構造研究가 進行되는 데에는, 이로부터 約 20數年餘를 經過하지 않으면 안되었다.

1.1.2 糖部分의 構造(Wood 등의 研究)

Wood 등은 stevioside(1)의 構造研究에 앞서서 Mosettig 등과 分擔하여 1) 糖殘基의 構造研究와 aglucone에 對한 結合樣式, 2) aglucone의 構造研究를 두 개로 나누어 그 研究를 한다는 方針을 세워서 그들 自身은 糖部分의 構造研究를 分擔하였다. 그들은 또, Stevioside(1)을 얻기 위한 抽出을 改良하여 ion 交換樹脂를 使用하는 것을 考察하였다.(勿論, Bridel 등의 時代에는 이러한 樹脂가 없었다.)

即, 風乾한 Stevia의 물抽出液을 陰이온, 陽이온 各交換樹脂를 通過시켜 脫이온化하면 거의 純粹한 Stevioside(1)이 7%의 收量으로서 얻어진다. 이 方法은 現在도 널리 使用되며 應用되고 있는 훌륭한 것이며, 이것에 關係서는 節을 바꾸어 記述하였다.

그들이 얻은 Stevioside(1)는 融點 196~198°C, 比旋光度 -39.3°를 나타내며, Bridel 등의 것과는 조금 다르다. 元素分析을 조심성있게 하여 分子式을 $C_{38}H_{58}O_{18}$ 로 決定하였다. 1은 5mol의 過沃度酸을 消費하였으며, 2mol의 蟻酸을 生成하였다. 이것으로부터 5組의 1,2 glycol이 있으며, 이 中에서 2組는 1,2,3 triol部分을 形成하고 있음이 豫想된다. 1을 메틸化하여 5% 硫酸으로 加水分解하고, isosteviol (3)을 除去하고 남은 Syrup을 paper chromatography에 걸었더니, 2種類의 메틸化 糖의 混合物임이 나타났다, 한 편은 다른 편의 倍의 關係였었다. 이것

은 후에 2, 3, 4, 6-tetra-o-methyl-o-glucose (4)와 3, 4, 6-tri-o-methyl-D-glucose(5)라는 것이 알려졌다. 이러한 것은 aglucone의 3개의 酸素에 對하여 제각기 한 개의 glucose 單位가 結合하고 있는 것이 아닌가 하는 것을 나타내고 있다. 1을 10% 苛性加里溶液中에서 加熱하고 醋酸酸性으로 하면 比較的 難溶性인 甘味가 없는 物質이 얻어졌다. 元素分析의 結果, 1로부터 glucose가 한 개 만큼 떨어진 것에 相當하는 $C_{42}H_{84}O_{18}$ 과 一致하며, 이것을 stevioside (6)라 命名하였다. (mp 188~192°C, $[\alpha]_D^{20}$ -3, 7, 4) 떨어져 나간 糖은 levoglucosan(7)으로서 얻어졌다. (6)은 酸으로서 滴定되었으며 赤外線 吸收 스펙트럼 (IR)에서 Carboxyl基의 吸收가 $1,690\text{cm}^{-1}$ 및 $2,740 \sim 2,350\text{cm}^{-1}$ 에서 나타났다.

1은 還元성이 없으므로 1개의 glucose의 c-1과 2의 carboxyl基와 에스테르結合을 하고 있으며 나머지 2개의 glucose는 모두 c-1位가 結合에 關與하고 있다. 카복실基 以外の 酸素官能基는 steviol에 한 개 밖에 없으므로, 이 두 개의 glucose는 stevioside (1)와 Steviolbioside(6)가 같은 場所에 結合되어 있는 셈이 된다. 6은 3mol의 四錯酸鉛을 消費하므로 糖殘基間에서의 結合位置가 c-2 또는 c-4位이다. 6을 메틸化하여 酸加水分解하면 3의 메틸에스테르 (8)와 메틸化糖 混合物이 얻어져 그것은 濾紙 크로마토그래피에서 4와 5와의 거의 1:1의 混合物임이 알려졌다.

4는 c-1의 azoate로서 結晶化되어 5는 Cellulose chromatography에서 結晶狀으로 單離되어 確認되었다.

標品과 X線回折 pattern, Borate의 電氣泳動 pattern이 一致하여 2, 3, 6-tri-o-methyl-D-glucose와는 明確하게 區別되었다.

따라서 6에는 B式과 같은 糖이 結合하고 있으며 1이 A式으로서 나타내어지는 것도 明確하다. 그러나 糖의 Anomer位의 配位는 지금까지의 實驗에서는 밝혀져 있지 않다.

Wood 등은 이어 1956年 ester結合한 glucose의 c-1位의 配位에 關하여 合成한 model化合物을 使用

하여 檢討하였다.

c-1에서 結合된 糖 ester가 알카리 加水分解에서

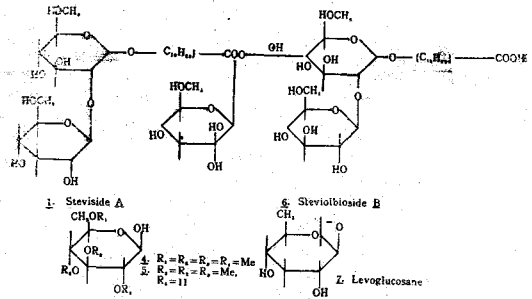


圖 1 Stevioside인 糖의 性質

glucosan을 부여한 것과 같은 예는 當時에는 알려져 있지 아니하였으므로 1의 強알카리 處理에 의하여 levoglucosan (7)을 生成한 것은 注目되었다.

一般的으로 糖 ester의 알카리 加水分解는 ester-carbonyl炭素를 OH이온이 攻撃하여 $-O+C=O$ 結合을 切斷한다. 그러나, 立體障害가 큰 酸에서는 그 Carbonyl炭素는 比較的 OH-이온의 攻撃을 받기 힘들었으며 다른 C-O結合이 切斷되는 것으로 생각된다.

萬若 이 ester가 aldose의 c-1炭素에 있다고 하면, 먼저 形成하는 糖 fragment는 Phenol性的 β -D-glucose의 알카리 解裂로서 levoglucosan을 生成하는 反應²⁾에서 假定된 中間體와 같은 것일 可能性이 있을런지 모르겠다. phenyl β -D-glucoside는 알카리로서 處理하면, 쉽게 levoglucosan을 부여하는데 대하여, phenyl α -D-glucoside는 부여하지 아니한다 라는 것이 또 잘 알려져 있다.³⁾

萬若 이러한 것이 立體障害가 큰 c-1에서의 ester에서도 正確히 成立된다면 알카리 處理로서 B-C-1 ester는 levoglucosan을 부여하며 α -c-1 ester는 부여하지 않는다는 것이 豫想된다.

이것을 確認하기 위하여 簡單하며 잘 研究되어 있는 立體障害가 있는 酸 mesitoic acid(7)를 골라 1-O-mestoyl-D-gluco-pyranose(10), (11)의 2개의 anomer를 아세틸體로서 合成하였다. 兩 Anomer는 알

코올 중에서 熱 Fehling液을 還元하였다. 이것은 알카리에 의하여 ester結合한 糖의 一部가 還元性으로 變換한 것으로 생각된다. 그러나 熱알카리로서 處理하였을때 顯著한 對比를 보였다. β -異性體(10)가 밝은 琥珀色의 溶液이 되어 녹으며 冷却後 酸性으로 하면 mesitoic acid(9)가 沈澱하였다. 濾過後, 濾液을 脫이온化하면, 結晶狀의 levoglucosan(7)이 70%의 收率로서 얻어졌다.

固定은 結晶性이 좋은 tri-benzoate로서 행해지고 있다.

한편, α 異性體(11)는 暗色의 溶液이 되어 糖部分의 分解가 일어나고 있음을 나타내고 있다. 그리고 7은 全히 檢出되지 않았다.

以上の 事實은 stevioside(1) 中の ester結合한 glucose의 c-1位의 配位에 關하여 같은 類推가 옳다면, β 配位였음이 어느 程度의 確實性으로서 結論 지워 진다.

그리고, 남은 두 개의 glucose는 서로 C-1-C-2結合을 한 最극한 것이지만, 아이슬랜드産인 이끼로부터 얻어진 hemicellulose⁹⁾ crowngold 中の polysaccharide¹⁰⁾, 회와나무 알맹이에 含有되어 있는 配糖體의 糖인 Sophorose¹¹⁾ 등에 이 結合의 例가 보여진 다.

이 結合 樣式은 vis 等에 의하여 決定되었다.¹²⁾

Steviolide(6)를 아세틸化하여 heptaacetate를 얻었다. 이것은 水酢酸 中에서 容易하게 水素로서 解裂하고 比較的 難溶液의 acetobrobiose를 부여한다.

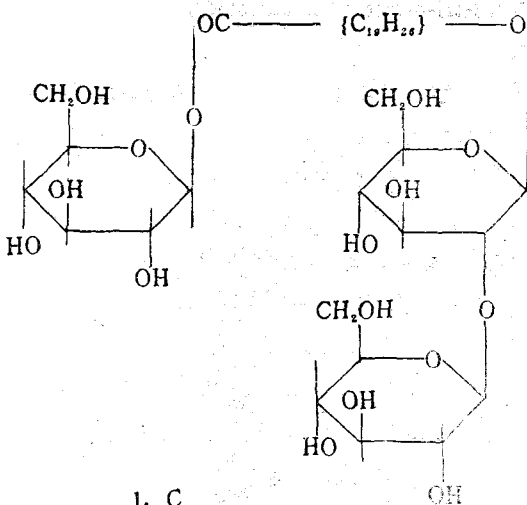
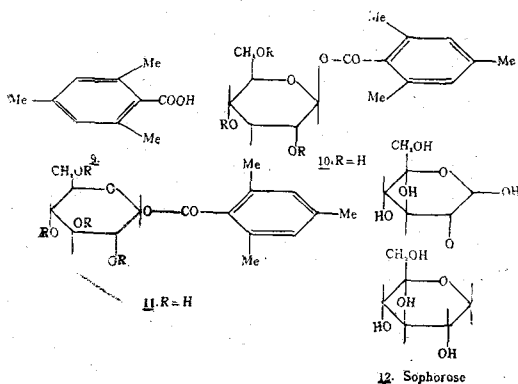


圖 2 糖의 Anomer位의 配位

이들 物理恒數들은 α -acetobromo-sphorose의 그것과 잘 一致하며 酢酸銀으로서 處理하면 β -sophorose-octaacetate를 부여하고 標品과 比較同定하였다. Sophorose (12)가 2-O-(β -D-glucopyranosyl)-o-g-lucose라는 事實이 결정되었으므로 그의 나머지 두 개의 glucose間의 結合은 臭化水素分解 等の 知見으로 보아 B라는 것은 틀림없다. 이러한 것들로부터 糖의 結合樣式은 C式처럼 결정된다.

1, 1, 3 Aglucone의 構造研究

前節 1, 1, 2에서도 記述한 바와 같이, Mosettig 等은 aglucone의 構造研究에 着手하였다.¹³⁾ 먼저 steviol(2)과 isosteviol(3)을 서로 關連시키면서, 3의 研究로부터 議論을 進行시킨 것이다.

3의 性質은 融點 231~233°C, 比旋光度 -79.3° 이며 極히 安定하여 減壓下에서 쉽게 昇華하며 大氣壓下에서 分解하지 않으면 蒸溜가 可能하다. 또, 쉽게 Semicarbazone을 만드는 것을 보아 carbonyl基의 存在를 알 수 있다. diazomethane에 의하여 methyl-ester(18)을 만들며, 3을 水酸化 리튬알미늄으로 還元하면 알코올이 얻어진다. 3을 無水酢酸 中에서 煮沸하면 比較的 不安定한 酢酸과의 酸無水物이 얻어지며, 알코올의 吸收는 없다. 3은 IR Spectrum

에서 1742 및 1695 cm^{-1} 에 又 紫外線吸收 spectrum에서 $\lambda_{\text{EtoH}}^{\text{Max}} 293\text{-nm}(\epsilon_{21})$ 에서 吸收를 가지며 carbonyl과 carboxyl基의 存在가 나타난다. 8의 加水分解에는 꽤 강한 條件이 必要한 것으로 보아, 이 caboxyl基는 강한 立體障害를 받고 있다는 것을 알 수 있다.

그리고, 1742 cm^{-1} 의 吸收는 5員環케톤을 나타내고 있다. 3에서는 化學的으로도, Spectrum的으로도 二重結合을 認定할 수 없으며 元素分析值 $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_8$ 인 것으로 보아 飽和된 4環性 炭化水素를 骨格으로 하는 케토카본酸임을 結論지었다.

3을 1 當量의 水素리튬알미늄 또는 白金觸媒에서의 接觸還元에 의하여 hydroxy isostevic acid(13)로 하여 過剩의 水素화 리튬알미늄에서는 dihydroxy isostevane으로 還元된다. 또 Huang-Minlon還元에서는 carbonyl이 消失한 isostevic acid(17)가 된다. 이 酸은 安定한 酸鹽化合物을 만들며 Rosemund還元에 의하여 이 鹽化合物은 好收率로서 Aldehyde體 isosteval(18)이 된다. 18은 不安定하며 1日 放置하면 油狀으로 되며 IR Spectrum에서는 水酸基와 Carboxyl 基의 吸收를 나타내게 된다. 또 18은 쉽게 Semicarbazon과 diethylthioetal을 만든다.

後者は Raney니켈에 의한 脫黃反應에 強하게 抵抗하였으나, 過剩의 觸媒에서는 長時間 反應시켜 低收率이면서도 飽和의 黃酸을 含有하지 않는 化合物 isostevane(19) mp 39~40°C를 얻게 됐다.

19는 既知의 炭化水素와 比較하여 Spectrum的으로 一致하는 것이 없으며 骨格으로서는 새로운 것임을 豫想할 수 있었다.

다음에 그들은 steviol(2)에 關하여 檢討하였다. 이 性質은 다음과 같다. 即 2개의 活性水素를 갖는다는 것 IR로서 carboxyl基와 水酸基의 吸收를 169, 3521~3333, 1610 cm^{-1} 에서 나타내지만 Carbonyl의 吸收가 없는 것, 2의 methylester는 遊離의 水酸基의 吸收를 3,610 cm^{-1} 에서 1,730 cm^{-1} 에 ester의 吸收를 나타내는 것 등이다. 又 2의 UV吸收 Spectrum은 phyllocladene(20)의 그것과 꽤 흡사하며, 二重結合이 存在하고 있다. 吸光係數는 二, 又は 三置

換의 二重結合임을 나타내고 있다. 20은 오존分解에 의하여 末端 二重結合임을 알고 있으므로 2의 二重結合도 이것과 마찬가지로 豫想되며, IR Spectrum에서 보여지는 3058, 1773, 1656, 1427, 874 cm^{-1} 의 各 吸收가 이것에 基礎를 두고 있다 하였다. 2의 메틸에스테르에도 3058, 1799, 1664, 1425, 886 cm^{-1} 에 吸收를 갖는다. 이와 같은 吸收는 isosteviol(3)의 系列에 있는 化合物에서는 볼 수 없다.

그리고 2는 鹽化第二鐵 反應이 나타나지 않으므로 enol은 存在하지 않는다. 2로부터 直接얻은 15와는 IR가 조금 달랐다.

이것은 立體化學의 點에 關하여서도 조금 問題가 있는 것이 나타나고 있다.

다음에 炭素骨格에 關하여서도 實驗을 하였다. 3을 370°에서 파라듐炭素로서 脫水하면 pimanthrene(16)이 얻어진다. 그러나 이때, 一連의 誘導體의 融點이 1-ethyl-2-methyl phenanthrene(21)의 그것에 極히 類似하다는 것이 알려졌다. 이것은 萬若 前者일 것 같으면, 3은 terpenoid에 屬하며, 後者일 것 같으면 17-ketosteroid로부터 由來함을 나타낸다는 重大한 問題가 된다.

이 두 개의 炭化水素의 標品을 檢討하여 세 개의 明白한 差를 發見하였다.

a) pimanthrene(16)의 s-trinitrobenzene 錯體는 이것이 融融할 때, 針狀晶으로 부터 葉狀晶으로 變化하는데 對하여 21의 같은 誘導體는 거의 이러한 變化를 안 나타낸다.

b) UV吸收에서는 isooctane 中 16은 326nm에 極大가 있으며 382nm에 屈曲線이 있다. 21에서는 이 關係는 逆으로 되어 있으며, 또 兩者 모두 340과 344nm에 極大를 가지나 16은 340nm쪽이 強하며 21에서는 兩吸收는 거의 같은 強度이다.

또 가장 重要한 點은 350nm와 328nm의 吸收強度의 比($\epsilon_{350}/\epsilon_{328}$)에 있으며 16에서는 067에 있으며 21에서는 11이 된다. CIR은 全然 다르며 그들이 얻은 化合物은 標品の 16과 아주 一致하였다.

以上の 것로부터 3은 perhydrophenanthrene 骨格을 갖고 있으며 이것에 5員環을 縮合하고 있는 것이지만 steroid骨格과 같은 1~2關係로 縮合하고 있는 것이 아니며 當時 알려져 왔던 ditepene의 骨格 1~3關係로 縮合하였다는 것을 불었다. 또 2→3이라는 變化에 關係서는 骨格의 變化가 없는 것으로 假定하여 제각기 D→E와 같은 構造를 推定하였다.

이 骨格은 diterpenalkaloid와 마찬가지로 phyllocladene(20) 등의 diterpene 炭化水素와 同類의 것이다. 또 carboxyl의 位置는 既知의 diterpencarbon酸과의 類似한 點으로 보아 그림과 같은 位置에 두었다.

그러나 5員環의 性質이나 官能基의 位置에 關係하여서는 證明이 不充分하며 더 한층의 研究가 進行되어 있어 왔다.

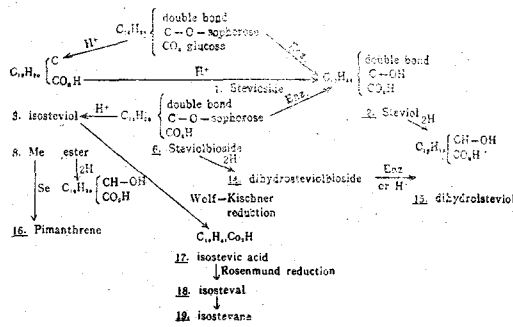


圖 3 (a) 여러가지 化學反應

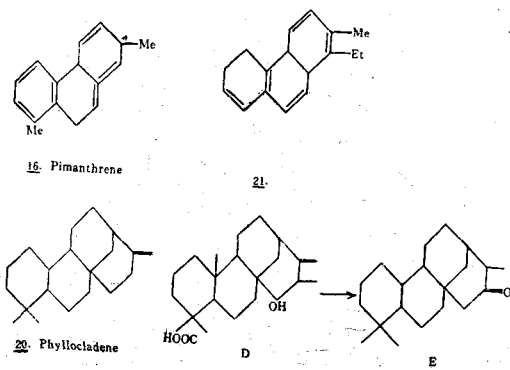


圖 3 (b) 炭素骨格의 해명

1. 1. 4 立體化學에 關하여

5年後인 1960年, 그들은 當時 研究者들에 의하여 차례차례로 밝혀진 지베레틴의 化學이나 旋光分散(ORD)의 研究의 成果를 包含하여 새로운 實驗 data에 基礎를 두어 構造를 訂正하기에 이르렀다.¹⁶⁾

먼저 3은 二酸化세렌으로서 diketone體(22)를 주고 또, 나트륨메톡사이드觸媒에서 蟻酸메틸과 縮合하여 hydroxymethylene體(23)를 附與하였다. 22는 guinoxaline誘導體로서 確認되었다. 이들 事實은 E式으로서는 說明되지 않는다. Steviol의 methylester를 Ozon酸化하면 ketolcohol(24)와 keto acid(25)가 얻어지며 이 24의 ORD曲線은 allogibberic acid(26)의 Ozon酸化 生成物 ketonorgibberic acid(28)¹⁴⁾의 ORD曲線과 接친다.

(26)은 酸으로 gibberic acid(29)로 變化되는 것이 알려져 29의 ORD曲線과 一致하며¹⁷⁾ 26→29 및 2-3의 組合은 5員環과 6員環의 環縮合이 同一함을 나타내고 있다.

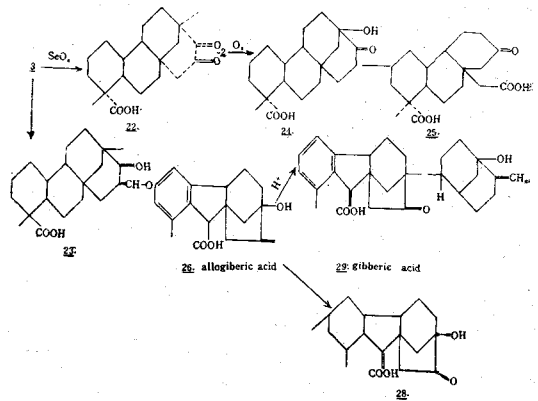
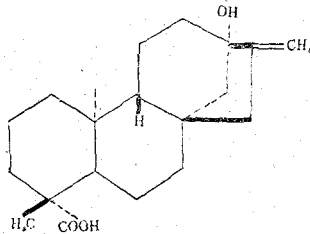


圖 4 (a) C/D環의 구조

다음에 Steviol을 還元하여 飽和炭化水素로 이끌어 다른 既知化合物과 比較한 것을 試圖하였다. 2를 파라듐炭素로서 接觸還元하면 dihydrosteviol A(30) mp, 210~212°, $[\alpha]_D -415 \pm 16^\circ$ 를 주었다. 한편 stevioside(1)을 酸化白金으로 接觸還元後 酸加水分解하면 dihydrosteviol B(31)mp, 209~212° $[\alpha]_D$

-78.8±1.0°를 附與하였다. 各己 methylester(32)와 (33)으로 한 後 水素化리튬알미늄으로서 選元하여 알코올體(34)와 (35)으로 하여 이것을 크롬酸파라딘 콤플렉스로서 알데히드 (36)과 (37)으로 하며, 이어 제탈리ethylendiol로서 thioacetal(38), (39)로 하고 Raney니켈로서 脫硫하여 三級알코올 (40) 및 (41)으로 하였다. 이 알코올五臭化磷으로 브롬화하여 (42)과 (43)으로 하였다. 이것을 Raney니켈로서 水素添加하면 飽和炭化水素 stevaneA(44)mp 87.5~88.5°와 stevane B(45)mp 4.7°/54~55°가 各己 얻어진다. (44)는 (-)- α -dihydro kaurene (mp 86~87°)¹⁸⁾로 同定되었다. 또 (45)는 (-)-Kaurene의 接觸還元の 副産物 (-)- β -dihydro kaurene과 一致하였다. gibberic acid(29)의 絶對構造가 確立되어 있으므로¹⁹⁾ 1부터 (-)-kaurene으로 變換된다는 것은 1의 c-8과 13의 立體化學이 26의 그것인 下式에 相當한다는 것이 決定됐다는 것으로 된다.



R	R'	R	R'
30 -COOH	-OH	31 -COOH	-OH
32 -COOMe	-OH	33 -COOMe	-OH
34 -CH ₂ OH	-OH	35 -CH ₂ OH	-OH
36 -CHO	-OH	37 -CHO	-OH
38 -CH< $\frac{S}{S}$	-OH	39 -CH< $\frac{S}{S}$	-OH
40 -Me	-OH	41 -Me	-OH
42 -Me	Br	43 -Me	-Br
44 -Me	H	45 -Me	-H

圖 4 (b) 骨格의 證明

다음에 Carboxyl基의 位置에 關해서지만, Djerassi等은 알카로이드 garryfoline (46)가 炭化水素(47)로 變換하였다는 것을 報告하였으나,²⁰⁾ 이 47이 融點, gaschromatography에서의 舉動이 stevane B(45)에 一致한다는 것이 알려 졌다. 이 Djerassi 等의 報告 中에서 中間體 알코올(48)이 1부터 誘導되

는 알코올(49)와 混雜 틀리며, 48의 hydroxymethyl이 C-10位에 있다는 것이 反應機構 等으로 부터 明白함으로 49의 그것은 C-4에 있는 것이 認定되었다.

即, 2에 있어서는 C-4에 카르복실은 C-4에 있다. 다음에 이 配位는 PKMCS值를 다른 化合物과 比較하여 決定하였다²¹⁾. 即, 5種類의 steviol과 iso-steviol의 誘導體의 PKMCS値는 8.52~8.68의 範圍에 있으며, 이것에 對하여 46→47의 變換反應中間體 Carbon酸(50)은 9.49이다. Steviol(2)와 그 誘導體의 경우는 deoxypodocarpic acid(51)(PK*MCS 8.45)²²⁾와 잘 一致하고 있으며 51은 A/B trans이며 C-4에 axial의 carboxyl基를 갖고 있으므로 steviol(2)의 Carboxyl은 이것과 같은 配位를 갖고 있는 것으로 생각된다.

남은 問題는 C-9의 配位가 됐다. 이것에는 ORD가 有效하게 使用되었다²³⁾. 圖-4에 나타난 것처럼 2를 ozon分解하였을 때 얻어진 norketol體(24)와 Seco acid體(25)의 ORD에 關하여서는 이미 言及하였으나, 그 위에 24를 부틸리튬 또는 포다습타샤리부 옥사이드로서 處理하면 50% 以上の 收率로서 iso norketol(53)을 준다.

이것은 24와는 逆으로 강한 負의 Cotton效果를 나타낸다.

24를 過沃素酸으로 酸化하면 seco acid(54)가 얻어지며 이 ORD는 正의 cotton效果를 나타낸다.

또 53은 같은 酸化에서 iso seco acid(55)를 주며 이것은 負의 Cotton效果를 나타낸다. ORD曲線으로부터 54는 5 β -3-keto steroid의 또 55는 5 α -3-keto steroid의 鏡像體가 되어 있다²⁴⁾. 또, 24로부터 53에의 鹽基에서 한 轉移는 C-8과 C-13位에만 關係하며 C-9位는 變化안하고 있을 것이다. 萬若 Steviol(2)가 C-9, 10 anti構造를 가지게 되면 두 개의 seco acid는 그림과 같은 組合이 되며 syn構造이면 제각기 (56) 및 (57)의 構造를 갖게 된다. octant側으로 부터의 豫測에서 54(G)는 弱한 正의 또 55(H)는 負의 cotton效果를 나타낸다고 생각되며 事實은 豫測과 잘 合致한다. C-9의 異性體 (56)과 (57)는

계각기 (I) 및 (J)의 投影圖로 부터 兩者 모두 正의 octon效를 가지며 (56)쪽 보다 강한 效를 갖는 것이 豫想된다.

또 (-)-isokaurene(58)를 過망간카뎀으로서 酸化하면 메틸케톤體(59)가 얻어진다. 이것을 Baeyer-villiger反應에 걸어 鹼化하여 더욱 酸化하면 Keto酸(60)이 얻어진다.

60의 ORD는 secoacid(54)와 마찬가지로 正의 octon效를 나타내며 5β-3-ketosteroid의 鏡像體이다.

이상의 것으로 부터 steviol (2)의 C-9는 β配位임이 決定되었다.

여기에 있어서 2의 構造는 絶對構造를 包含하여서 K式으로서 나타내지며 糖部의 構造와 合하여 stevioside(1)은 L式으로서 나타내게 된다.

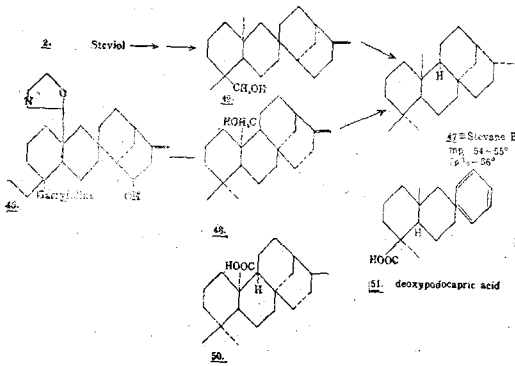


圖 5 Garryfolino와의 관계

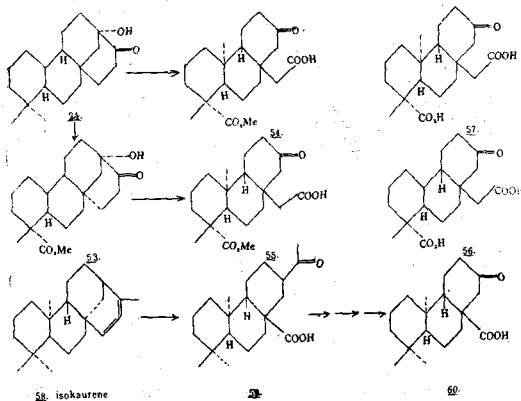


圖 6 (a) 絶對構造해명을 위한 誘導體의 合成

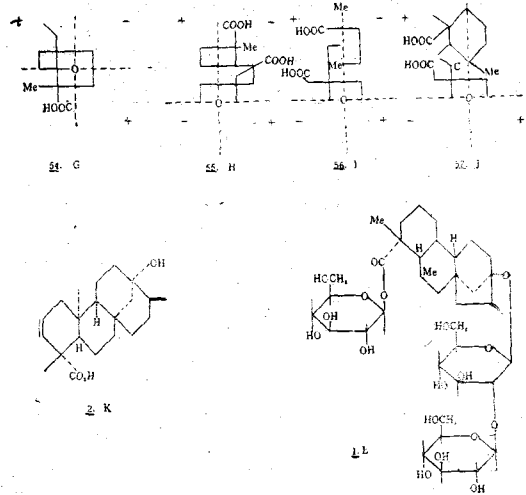


圖 6 (b) Octant投影圖와 Stevioside의 絶對配置

이 經緯에 關하여서는 1963년에 Steviol과 isosteviol의 絶對配位라는 題目으로 하나의 論文으로 整理됐다.²³⁾ 그 中에서도 Carboxyl基의 位置에 關하여서는 mass spectrum에 의한 새로운 證據를 덧붙였다.

1, 1, 5 스테비아配糖體의 C-13 核磁氣共鳴 Spectrum에 關하여

廣島大學藥學部의 田中等은 여러가지 Stevia配糖體¹⁹⁾의 CNMR을 測定하여 興味있는 結果를 얻고 있다.²⁴⁾ 各炭素의 化學 shift는 類似한 kaurene型 diterpen 및 glucose誘導體¹⁹⁾의 CNMR을 測定하여 置換基效果, off resonance, 選擇 decoupling 등의 技法을 使用하여 決定하였다. 그리고 그들은 重水素化 피리딘 中에서 測定하고 있다.

配糖體로서는 steviol (1), steviolbioside(6), 6을 酵素的으로 部分加水分解하여 얻은 monoglucoside(61), 또 그들이 分離한 新甘味配糖體인 rebadioside A(62)와 rebadioside B(63)²⁵⁾에 關하여 하고 있다.

이들의 配糖體¹⁹⁾의 CNMR spectrum에 있어서 特徵은 다음과 같은 것이 된다. 1) glucosylbon가 있

는 炭素의 隣接의 炭素는 2의 相當하는 位置의 炭素에 比하여 1ppm 以上 低磁場 shift한다. 2) 2의 C-13位에 結合한 glucose의 Anomer炭素는 異常한 高磁場 shift(97.6~99.4ppm)을 나타낸다. 3) ester glucose의 Anomer炭素는 95.6ppm이라는 高磁場에 있으며 또, glucose의 各 炭素도 全般的으로 ester의 效果에 의하여 高磁場에 shift하고 있다.

또 rebaudioside A(62) 및 B(63)에 관하여는 Glu-2(圖-4,7)의 C-3의 化學 shift가 顯著하게 低磁場에 있는 것(88.0, 87.8ppm)으로 부터 이 位置에 다시 1개의 glucose가 結合한 配糖體임을 알았다. 이 것은 다시 後述하기로 한다.

以上 例컨대 立體障害가 큰 水酸基에 結合한 β -glucose의 Anomer炭素의 ^{13}C NMR Signal가 普通인 것에 比하여 顯著하게 높은 磁場에 나타난다는 等의 知見과 함께 配糖體의 糖의 結合位置, Oligo糖部分의 構造 解明 等 ^{13}C NMR의 有用性이 이 分野에 있어서도 나타나졌다.(以上 圖-7 參照)

1. 1. 6 스테비올의 全合成

東京大學 農學部の 森 等은 지베레린類의 合成을 하고 있었으나 steviol(2)가 지베레린樣의 活性를 갖는다는 報告⁸⁰⁾에 힌트를 얻어 그 合成에 着手하였다.⁸¹⁾

出發物質은 Aldenhyde(65)로 하였다. 이 化合物은 그들이 이미 合成한 seco acid(25) (圖-4)의 重要한 合成中間體이다.⁸²⁾ 2의 全合成 앞에 이 25의 合成에 關하여 記述한다.

이때의 出發物質(66)은 Barletrop 等に 의하여 合成되였는 것⁸³⁾을 使用하였다. 여기서는 라세미體 中에서 한편의 에난지오머-로서 表示하였다.

66을 리튬타아사리부톡시하이드라이드로서 還元하여 Hydroxy ester(67)로 하여 酢酸水銀觸媒下에 틸비닐에테르로서 Vinyl ether(68)을 얻었다. 68은 Deca燐 中 200°C로 加熱하여 claisen轉移하면 aldehyde (65)가 얻어져 이것은 처음에 言及한 것처럼 Steviol(2)의 合成出發物質로 된 것이다. 65를 酸化銀으로 카본酸(69)으로 하였다. 이것을 過羧酸으로

處理하여 알카리 및 酸으로 順次處理하면 hydroxy lactone(70)이 얻어지며 이 水酸基를 Jones試藥으로 酸化하여 ketolactose(71)으로 한 後, 亞鉛末과 酢酸 中 hydrogenolysis하면 seco acid(25)가 얻어졌다. (圖-8)

그런데 2의 合成이지만 이 合成을 展開시키기 위한 據點으로서 水酸基를 갖는 bicyclo[3, 2, 1] Octane環系를 어떻게 해서 만드느냐가 問題가 된다. 이것은 지베레린骨格의 合成에 使用한 方法으로서 解決하였다.⁸⁴⁾ 即 epiallogibberic acid(72)의 合成時 bicyclo(2, 2, 2) Octane 1, 4dione系 化合物(73)을 亞鉛酢酸處理하면 72가 48%, 74가 6.6%, 75가 0.15%로서 얻어진다.

이것은 M式과 같은 cyclopropane glycol 中間體의 a-c bond의 切斷에 의하여 說明된다

2의 合成은 aldehyde(65)를 에티렌디올에 의한 ketal體(76)로 하여 出發하였다.

76의 Oleffine에 hydroboration을 하여 Jones試藥에 의하여 酸化하면 2種의 ketone體(77)와 (78)가 各己 62%와 13%의 收率로서 얻어졌다. 77을 아세톤中에서 酸으로 ketal을 풀면 同時에 알돌縮合生成物 ketol (79)가 92.5%의 收率로서 얻어졌다. 79을 酸化하여 얻은 diketone(80)을 clemmensen還元の 條件(亞鉛아말감-鹽酸)으로 處理하면 2개의 ketol가 얻어진다. 이 混合物을 크로마토그래피로서 分離하여 (81)과 (82)를 各己 19%와 41%의 收率로서 얻었다. 82는 光學的 性質을 除하고 norketol (24) (圖-4)와 完全히 一致하였다. 82는 Wittig反應에 보면 steviol(2)의 메틸에스테르의 라세미體가 67%의 收率로서 얻어졌다.

이것을 알카리로 處理하면 2의 라세미體가 얻어지며 全合成됐다. spectrum의 性質은 天然物과 一致하였다.

그後 Cook와 Knox는 (-)-kauur-16-en-19oic acid(83)을 使用하여, steviol(2)으로 變換에 成功하고 있다.⁸⁵⁾ 83의 메틸에스테르(84)를 Ozon酸化하여 norketone(85)을 얻는다. 이것을 Baeyer-villiger反應에 걸어 lactone(86) IR 1730, 1725cm⁻¹로 하고

다음에 이것을 加水分解하여 lactone環을 열고 조심스럽게 메틸화, 이어, 크롬산피리딘으로 酸化하면 ketodiester(87)가 얻어진다. 87은 天然으로 부터 얻어지는 secoacid(54)의 메틸에스테르와 여러 點에서 一致한다. 이 87을 Acyloin型 縮合反應에 걸어 閉環體를 얻는 것인데 이 反應이 이 合成의 열쇠가 되어 있다. Model實驗의 結果에서는 바람직하지 않는 二量體가 相當한 量으로 되지만 閉環體도 얻어지고 있다.

87은 液體암모니아 中, 金屬나트륨으로 反應시켜 酸性生成物을 크로마토그리피 分離하여 diol acid (88)을 얻었다.

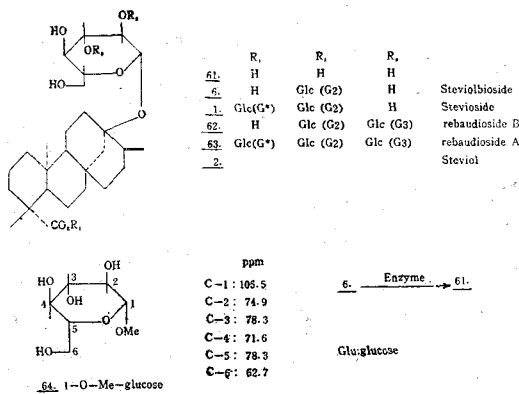


圖 7 ¹³C NMR

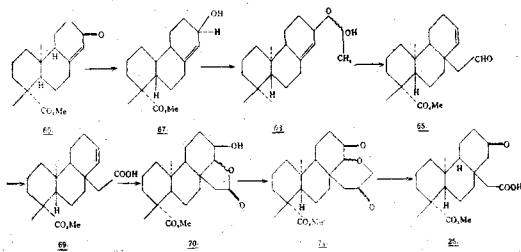


圖 8 Seco(25)의 合成

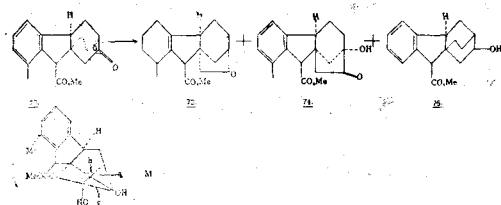


圖 9 C/D環系合成의 Model

이때 反應生成物은 ¹⁴C-沃度메틸로서 메틸에스테르로 하고 薄層크로마토그리피上에서 scanning하여 88, 89의 生成率이 各己 27%와 3%에서 생기고있는

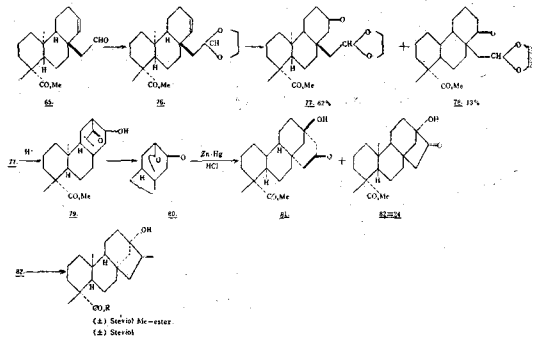


圖 10 Steviol의 全合成圖

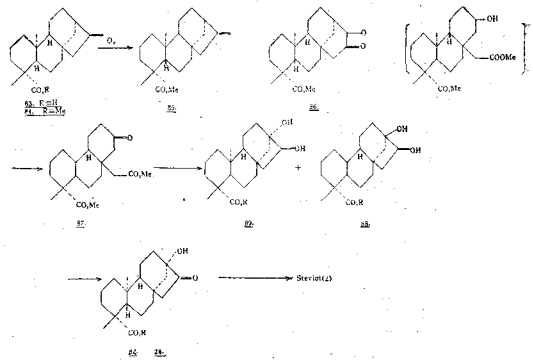


圖 11 Cook Knok의 合成

것을 認定하였다. 또 二量體라고 생각되는 Spot는 54%의 收率이었다. 88을 메틸에스테르로 한 後, 酸化하여 ketol ester(82)를 얻었으나 이것이 天然由來의 noketol(24)의 메틸에스테르와 諸恒數가 一致하였다.

最後의 step는 wittig反應이지만, 이 때는 24로 하여 행하였다. 또 norbeyerane ketol(90)으로의 異性化를 防止하기 위하여 Trimethyl silyl ether로서 行하였다.

生成物은 天然의 steviol(2)와 모든 點에서 一致하였다. (다음호에 계속)