생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
16(3):160~164(1985)

이리도이드 配糖體(VI)

조개나물의 이리도이드 배당체

정 보 섭·유 완 근
서울대학교 약학대학

Iridoid Glycoside(VI)

Studies on the Iridoid Glycoside of *Ajuga multiflora* Bunge

Bo Sup Chung and Woan Keun Yoo
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—*Ajuga multiflora Bunge* is a perennial herb in the family of Labiatae. The iridoid glycoside was isolated from the ethylacetate fraction and the n-butanol fraction of the plant. The structure of the substance was identified as 8-O-acetylharpagide by UV, IR, NMR spectra and several chemical reactions.

Keywords—*Ajuga multiflora* · Labiatae · iridoid glycoside · 8-O-acetylharpagide

조개나물(*Ajuga multiflora* Bunge)은 Labiatae(순형과)에 속하는 多年生草本으로 백색꽃이 피는 것을 흰조개나물(*Ajuga multiflora* for *leucantha* T. Lee), 적색꽃이 피는 것을 붉은 조개나물(*A. multiflora* for *rosea* Y. Lee)이라고 부르며, 민간에서는 꽃이 달린 원줄기와 잎을 꿀풀(夏枯草)과 더불어 利尿劑로 사용하거나 連珠瘡에 사용하고 있다.[1,2]

순형과 식물의 iridoid 成分에 관하여는 1972년 P. Kooiman에 의해 Labiatae의 31속 126종에서 harpagide, acetylharpagide, melittoside, lamiol, catalpol 등이 있는 것으로 밝혀졌으며[3], 그 외 많은 사람들에 의해 lamioside와 lamiol[4], melittoside[5], lamiide[6], galiridoside[7], lamalbid[8], phlomiol[9], glurosid[10], ipolamiidoside[11], lamiidoside[12], nepetolglucosylester[13], umbroside[14] 등이 분리 보고되었다.

Ajuga속 식물의 iridoid成分에 관하여는 1971년에 Kostecka Madalska 등에 의해 *A. genevensis* 및 *A. repens*에서 aucubin이 있는 것으로 밝혀졌으며[15], 1974년 Guiso 등에 의해 *A. reptans*에서 ajugoside, ajugol[16,29]과 reptoside[17]가 분리 보고되었다.

1976년 Komissarenko 등에 의해서는 *A. reptans*에서 harpagide, harpagide acetate가 있는 것으로 밝혀졌다.[18]

한국에 자생하는 Ajuga속 식물로는 3종이 보고되어 있으며[1,2] 鄭 등이 자란초(*Ajuga spectabilis* Nakai)의 抗癌性[19] 및 jaranidoside[20]를 분리 보고한 바 있다.

本實驗은 한국에 자생하는 순형과 식물중의 Ajuga속 식물의 iridoid 成分에 관한 연구의 일환으로, 조개나물에서 harpagide[21]의 C-8位에 acetyl group이 있는 8-O-acetyl-harpagide[22]를 분리 확인하였기에 보고하는 바이다.

實 驗 部

1. 재료, 시약 및 기기

(1) 재 료

관악산에서 1981년 5월에 채집한 *Ajuga multiflora* Bunge의 전초(全草)를 곧바로 세절하여 사용하였다.

(2) 시 약

시약은 분석용 1급시약을 사용하였고, 용매는 모두 사용 직전에 증류하여 사용하였으며, column chromatography用 흡착제로는 230 mesh 이하의 Silica gel 60(E. Merck)를 사용하였고 TLC用 흡착제로는 Silica gel GF 254(E. Merck)를 사용하였다.

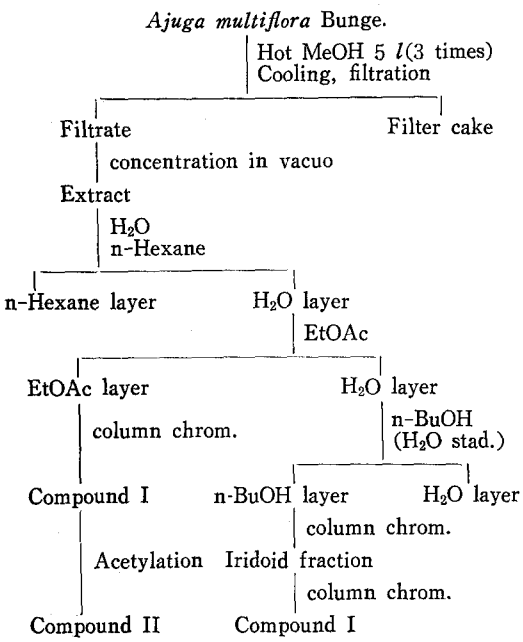
(3) 기 기

본 실험에 사용된 기기로서 UV spectra는 Unicam SP 1750 UV Spectropohtometer, IR spectra는 Beckman IR-20A(KBr disk), NMR spectra는 Perkin-Elmer R-32(90MHz), MP 측정기는 Gallenkamp(uncorrected)를 사용하였다.

2. 추출 및 분리

시료 1.3kg을 세절하여 MeOH 5*l*를 가하여 수욕상에서 8시간 환류냉각하에서 3회 가열추출하여 여과한 후 감압농축하였다.

Scheme 1과 같이 MeOH extract에 n-hexane을 가하여 비극성화합물을 제거하고 차례로 EtOAc layer, BuOH layer를 얻었다.



Scheme 1. Separation of iridoid compound from *Ajuga multiflora*.

EtOAc layer와 BuOH layer의 TLC 결과로 나타난 main spot는 iridoid compound라 추정되었으며 이들은 동일물질로 보였다.

EtOAc layer를 column chromatography법(solvent, benzene : MeOH : acetone=4 : 1 : 1)을 사용하여 분리한 결과 단일한 물질 comp. I을 얻었다. comp. I을 mild한 조건에서 acetylation하고 column chromatography(solvent, benzene : MeOH=4 : 1)로 분리하여 comp. II를 얻었다.

또한 BuOH layer를 column chromatography법(Solvent, benzene : MeOH : Acetone=1 : 2 : 1)을 사용하여 iridoid fraction을 얻어 이를 다시 column chromatography($CHCl_3$: MeOH : water =65 : 35 : 10, lower layer)하여 단일한 물질을 얻었으며, 이는 물리화학적 성질 및 기기 data가 compound I과 일치하였다.

3. 分 析

(1) Comp. I의 물리화학적 성질

column chromatography를 통하여 분리한 분획을 MeOH에서 재결정하여 백색 침상 결정인 comp. I을 얻었다. 이 물질은 서로 다른 용매조성을 가진 3가지 전개용매 system의 TLC상에서 단일한 spot로 나타났다. 이 물질을 산으로 가수분해한 결과 glucose가 생겼으며 glucose는 표품과의 TLC로 확인되었다.

mp. 155~8°

Liebermann-Burchard reaction : 양성(陽性), anthron test : 양성(陽性), $SbCl_3$ test : 양성(陽性).

ir, 3300~3400(hydroxyl group), 2900(aliphatic C-H), 1715(carbonyl group), 1650(C=C), 1370(CH_3), 1230(C-O-C), 950(=CH vinylic OOP), 1660, 1415, 730cm^{-1}(alkene의 cis form), UV, λ_{max}(MeOH) 211nm.

nmR(90 MHz), δ 6.53(1H. d. J=6.5Hz. C_3-H), 6.11(1H. d. J=0.8Hz. C_1-H), 5.04(1H. dd. J=6.5Hz, 1.5Hz. C_4-H), 4.80(C_1'의 anomeric proton, under HDO peak), 3.8~4.1(1H. m. C_6-H), 2.88(1H. s. C_9-H), 2.10(2H. C_7-H under CH_3CO peak), 1.45(3H. s. C_{10}-H).

(2) Comp. I의 Acetate體 Comp. II의 合成

comp. I 100mg을 무수 pyridine 2m*l*에 녹인

후 acetic anhydride 4ml를 넣어서 실온에서 수일밤을 방치시켜 반응시킨 후 냉수를 가하여 반응을 중지시키고 여과한 후 잔사를 다시 column chromatography(solvent, benzene : MeOH=4 : 1)하여 comp. II를 얻었다. comp. II는 MeOH에서 무색의 침상결정으로 석출되었다.

mp, 225~228°

nmR(90MHz), δ6.32(1H. d. J=6.5Hz. C_3-H), 6.04(1H. d. J=1.5Hz. C_1-H), 5.01(1H. dd. J=6.5Hz, 1.5Hz. C_4-H), 4.0~5.3(8H. m. C_6-H. 당 proton-7개), 2.10(2H. C_7-H. under CH_3CO peak), 3.00(1H,s, C_9-H), 1.46(3H. s. C_{10}-H), 1.85~2.10(6×OAc).

ir, 3500~3600(free-OH), 1715(carbonyl group), 1650C=C), 1370(CH_3), 1230(C-O-C) and 950cm^{-1}(=C-H vinylic OOP).

考 察

comp. I은 Liebermann-Buchard반응 양성에서 분자內에 terpene 구조를 가지고 있음을 알 수 있었으며 $SbCl_3$ test 양성에서 iridoid 화학골격을 가짐을 알 수 있었고 anthron test 양성과 산가수분해에서 생성된 glucose로 배당체임을 확인할 수 있었다. UV λ_{max}(MeOH) 211nm에서의 흡수 peak로 iridoid의 non-conjugated enol-ether system을 확인 하였다.[23]

I.R. spectrum에서 3300~3400cm^{-1}에서 나타나는 broad한 흡수 band로 —OH기의 존재를 확인하였으며, comp. I을 mild한 조건에서 acetylation하였을 때 3550cm^{-1}에서 나타난 free-OH로 보아 분자內에 tertiary-OH기가 존재함을 알 수 있었고, comp. II의 NMR spectra에서 5개의 acetyl group signal이 증가한 점으로 미루어보아 comp. I의 分子內에 secondary —OH기가 하나 더 존재함을 알 수 있었으며, 이로써 comp. I의 분자구조에는 당이 한개 결합하고 있음을 알 수 있었다.

1715cm^{-1}에서 carbonyl group, 1650cm^{-1}에서 double bond를 알 수 있었으며, comp. I의 NMR spectra에서 methyl group과 acetyl group의 존재를 알 수 있었다.

comp. I과 harpagide의 NMR spectrum을 비교해 보면 각각 ajugoside, lamioside와 ajugol, lamiol의 NMR spectrum과 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다(Table 1). 이 두 group의 화합물은 acetyl group의 존재유무로 구별되며 C_1, C_6, C_7, C_9 그리고 C_{10}의 methyl group의 proton signal이 comp. I, ajugoside lamioside와 harpagide, ajugol, lamiol의 두 group에 있어서 서로 대응하고 있음을 볼 수 있다.

comp. I과 ajugoside에 있어서의 NMR spectra의 차이는 다음과 같으며, 이로써 comp. I의 C_5 位에 tertiary hydroxyl group이 존재하고 있음을 알 수 있다.

가) ajugoside에 있어서 C_3의 vinylic proton이 double doublet(δ 6.32, J 6.5/1.5Hz)임에 비하여 comp. I에 있어서는 doublet(δ 6.53, J 6.5 Hz)으로 나타났다.

나) 2.0~3.0δ에서의 proton integral이 comp. I은 ajugoside에 비하여 하나의 proton이 적다.

C_6位의 —OH기의 입체배위는 α-configuration으로 가정할 때 C_4의 proton signal이 doublet으

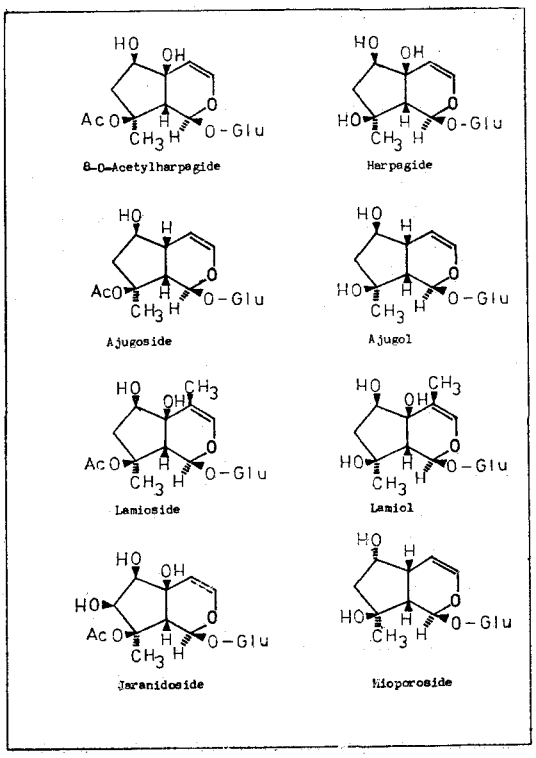


Fig. 1. Structure of 8-O-acetylharpagide analogs.

Table I. NMR spectra comparisons(δ)

	C_1-H	C_3-H	C_4-H	C_5-H	C_6-H	C_7-H	C_9-H	C_{10}-H	C_{11}-H
8-O-Acetylharpagide	6.11 d	6.53 d	5.04dd		3.9	2.10	2.88	1.45	—
(D_2O)[4,16,17]	*J*0.8	*J*6.5	*J*6.5/1.5		m	m	s *	s	
Harpagide hexaacetate	6.04 d	6.32 d				under CH_3CO	3.00	1.46	—
($CDCl_3$)[4]	*J*1.5	*J*6.5				peak	s *	s	
Harpagide	5.75 d	6.41 d	5.09dd		3.9	1.93	2.58	1.27	—
(D_2O)[16]	*J*0.8	*J*6.5	*J*6.5/1.5		m	m	s *	s	
Ajugoside	5.93	6.32dd	4.6~5.0	2.91	4.18	2.22	2.91	1.47	—
(D_2O)[16]	s *	*J*6.5/1.5			m	m	s *	s	
Ajugol	5.55 d	6.28dd	5.02dm	2.73	4.08dt	2.02dq	2.68 d	1.35	—
(D_2O)[16]	*J*1.0	*J*6.5/1.5	*JJ*6.5/m		*J*5.5/2.0	*J*13.8/5.5/5.5	*J*1.0	s	
Lamioside	5.96 d	6.17q	—		4.07	2.05	2.81	1.42	1.58 d
(D_2O)[4]	*J*0.8	*J*1.3			m	m	s *	s	*J*1.3
Lamiol	5.60 d	6.08q			3.9	1.90	2.49	1.17	1.57 d
(D_2O)[4]	*J*0.8	*J*1.3	—		m	m	s *	s	*J*1.3
Jaranidoside	5.92	6.45 d	5.05dd		4.6	3.7	2.67	1.45	—
(D_2O)[20]	s	*J*6	*J*6/1.5		m	m	s	s	
Mioporoside	5.58 d	6.44dd	5.15dd	2.96	4.60	2.30~1.60dq	2.38dd	1.44	—
(D_2O)[30]	*J*2.5	*J*6.5/2.0	*J*6.5/2.5	cm	cm	*J*13.5	*J*7.5/2.5	s	

로 되어야 하며, 또한 ring strain이 너무 커진다는 사실에서 β-configuration으로 추정되었다.

comp. I과 lamioside의 NMR spectra의 차이는 다음과 같으며 이로써 C_4位의 Me group의 존재가능성이 배제되었다.

가) lamioside에 있어서는 C_3=C_4의 vinylic proton이 6.17δ에서 quartet(*J* 1.3Hz)으로 나타남에 비하여 comp. I에 있어서는 δ6.53과 δ5.04에서 각각 doublet과 double doublet으로 나타났다.

나) lamioside에 있어서 C_4位에 결합된 Me group의 signal이 δ1.58에서 doublet(*J* 1.32Hz)으로 나타남에 비해 comp. I에서는 이러한 signal이 없다.

C-1位의 glucosyl group은 다른 iridoid glucoside와의 비교와, comp. I의 안정성에 비추어 C(1)의 hemiacetalic OH에 결합되어 있음을 알 수 있었다.[4,16,23]

또한 NMR spectra에서 δ4.80ppm에서 HDO peak에 묻혀서 나타난 coupling constant가 약 7Hz인 signal은 C'_1의 anomeric proton으로서 glucose가 β-configuration으로 결합하고 있음을 입증한다.[4,16,24,25]

IR spectrum에서 1660cm^{-1}, 1415cm^{-1}, 730cm^{-1}에서의 흡수 band는 C_3=C_4 double bond가 cis form임을 시사한다.[20,26] 따라서 methyl group과 acetyl group은 cyclopentane ring에 결합하고 있음을 알 수 있다.

NMR spectra에서 δ1.45에서 singlet으로 나타난 3H(Me) signal로 부터 acetyl group이 methyl group과 함께 C_8位에 연결되어 있음을 추정하였다.

이것은 또한 harpagide와 lamoil, ajugol 등에 있어서 acetyl group의 소실로 인하여 나타나는 C_8位의 Me group signal과 C_1, C_9의 proton signal의 chemical shift value가 비슷하다는 사실로 뒷받침된다.

C_8位의 acetyl group과 Me group의 입체배위는 C_8位의 methyl proton signal과 C_1, C_9의 proton signal의 chemical shift로 부터 각각 β-, 및 α-configuration으로 결정되었다.[14,20,24,25,27]

이상의 결과로써 comp. I과 그의 acetate體인 comp. II는 이미 밝혀진 바 있는 8-O-acetyl harpagide[22] 및 harpagide hexaacetate[28]와 그 평면구조가 같았고 두 물질은 mp, ir, nmr spectrum과 비교한 결과 완전히 일치함으로써 comp. I은 8-O-acetylharpagide로 확인되었다.

結 論

조개나물(*Ajuga multiflora* Bunge)의 전초에서 분자식 $C_{17}H_{26}O_{11}$인 white needle crystalline substance를 얻었고, 이 물질은 iridoid배당체인 8-O-acetylharpagide임을 확인하였다.

〈1985년 8월 10일 접수 : 9월 8일 수리〉

文 獻

1. 李昌福 : 大韓標物圖鑑, 鄕文社, 1980.
2. 鄭台鉉 : 韓國植物圖鑑(下), 新志社, 1956.
3. Kooiman, P.: *Acta. Bot. Neerl.*, **21**, 417 (1972).
4. Scarpati, M.L., Guiso, M.: *Tetrahedron*, **23**, 4709 (1967).
5. Scarpati, M.L., Esposito, P.: *Gazz. Chim. Ital.* **97**, 1209 (1967).
6. Scarpati, M.L., Guiso M.: *Gazz. Chim. Ital.* **99**, 1150 (1969).
7. Sticher, O.: *Helvetica Chimica Acta* **53**, 2010 (1970).
8. Brieskorn C.H., Ahlborn, I.R.; *Tetrahedron Letters* **41**, 4037 (1973).
9. Bianco, A., Guiso, M., Iavarone, C., Trogolo, C.: *Gazz. Chim. Ital.* **105**, 185 (1975).
10. Sticher, O., Rogenmoser, E., Weisflog, A.: *Tetrahedron Letters*, **5**, 291 (1975).
11. Bianco, A., Guiso, M., Iavarone, C., Trogolo, C.: Gazz. *Chim. Ital.* **106**, 947 (1976).
12. Bianco, A., Bonini, C., Guiso, M., Iavarone, C., Trogolo, C.: *Gazz. Chim. Ital.*, **107**, 67 (1977).
13. Tagawa, M., Murai, F.: *Planta Medica*, **39**, 144 (1980).
14. Chung, B.S., Kim, J.W., Lee, H.K.: *Kor. J. Pharmacogn.* 12, 82 (1981).
15. Olga: *Farm. Pol.* **27**, 399(1971) Chemical Abstract **76**, 76394W.
16. Guiso, M., Marini-Bettolo, R., Agostini, A.: *Gazz. Chim. Ital.* 104, 25 (1974).
17. Guiso, M., Agostini, A., Marini-Bettolo, R.: *Gazz. Chim. Ital.* **104** 403, (1974).
18. Komissarenko, N.F.; Derkach, A.I.; Shermet, I.P.: Pakaln, D.A.: *Khim. Prir Soedin.* **1**, 109 (1976), *Chemical Abstract*, **85**, 5957IV.
19. Chung, B.S., Chung, W.K., Kim, C.H., Chun, M.W.: *J. Pharm. Soc. Kor.* **14**, 51 (1970).
20. Chung, B.S., Lee, H.K., Kim, J.W.: *Kor. J. Pharmacogn.* **11**, 15 (1980).
21. Lichti, H., Von Wartburg, A.: *Tetrahedron Letters*, **15**, 835 (1964).
22. Scarpati, M.L., Guiso, M., Panizzi, L.: *Tetrahedron Letters* **39**, 3439 (1965).
23. Bobbit, J.M., Segebarth, K.P. in '*Cyclopentanoid Terpene derivatives*' W.I. Taylor and A.R. Battersby eds.; Marcel Dekker, New York, 1969.
24. Lenz R.W.: *J. Ploymer Science*, **51**, 247 (1961).
25. Shoolery, J.N., Alder B.: *J. Chem. Phys.* 23, 805 (1955).
26. Nakanishi, K., Solomon, P.H.: *Infrared Absorption Spectroscopy*, 2nd edit. Holden-day Inc., 1977.
27. Rimpler, H.: *Planta Medica*, **33**, 313 (1978).
28. Lichti, H., Von Wartburg, A.: *Helvetica Chimica Acta*, **49**, 1552 (1966).
29. Damtoft, S., Jensen, S.R. and Nielsen, B.J.: *Phytochemistry* **20**, 2717 (1981).
30. Bianco, A., Guiso, M., Iavarone, C., Trogolo, C.: *Gazz. Chim. Ital.* **105**, 175 (1975).