

## 이리도이드 配糖體 (II)

—續斷의 이리도이드 配糖體 및 唇形科 植物의 制癌效果—

鄭 普 燮 · 金 鎮 雄 · 李 炯 圭

서울대학교 藥學大學

### Iridoid Glycoside (II)

Iridoid Glucoside from *Phlomis umbrosa* Turcz. and Antitumor Activity of Labiatae Plants

Bo-Sup CHUNG, Jin-Woong KIM and Hyeong-Kyu LEE

College of Pharmacy, Seoul National University

A novel iridoid glucoside was isolated from the root of *Phlomis umbrosa* Turcz. (Labiatae) "Sok-dan" and named as Umbroside. It was obtained as amorphous powder and its molecular formula is  $C_{19}H_{18}O_{12}$ . By enzyme hydrolysis it produced a stable aglucone and  $\beta$ -D-glucose. The structure of Umbroside was determined as 8-O-acetyl shanzhiside methyl ester. Antitumor activity of Labiatae plants was also tested.

Iridoid類는 현재까지 다양한 生物學的活性이 보고되어 있는 바<sup>1)</sup> 그 중 nonglucosidic iridoid인 allamandin<sup>2)</sup>은 p-388 Leukemia 및 KB cell에 대하여 有意性이 있는 효과를 나타냈고 plumieride type iridoid glucoside인 penstemide<sup>3)</sup>는 p-388 Leukemia test system에 대하여 抗癌力이 인정되고 있다. 저자들은 순형과(Labiatae) 식물의 抗癌 screening 및 iridoid 成分研究의 일환으로써 이미 자란초의 抗癌性<sup>4)</sup> 및 Jaranidoside<sup>5)</sup>를 분리 보고한 바 있다. 이번에는 순형과 식물중 續斷, 益母草, 夏枯草 및 자란초의 항암 screen-

ing 및 續斷(*Phlomis umbrosa* Turcz.)의 뿌리에서 iridoid glucoside를 분리하여 그 화학구조를 밝힌 바 새로운 iridoid glucoside로 판명되어 Umbroside(I)라 命名하여 보고 한다.

I은 Liebermann-Buchard 반응,  $SbCl_5$  test, d-HCl test로 부터 iridoid의 화학구조를 가졌음을 인지할 수 있었고, anthrone test 양성에서 해당체임을 알 수 있었다.

UV  $\lambda$  max 231 nm에서 carbonyl group이 double bond에 연결된 enol-ether system을 가진 iridoid임을 예측케 하였다. I의 PMR spectrum에서

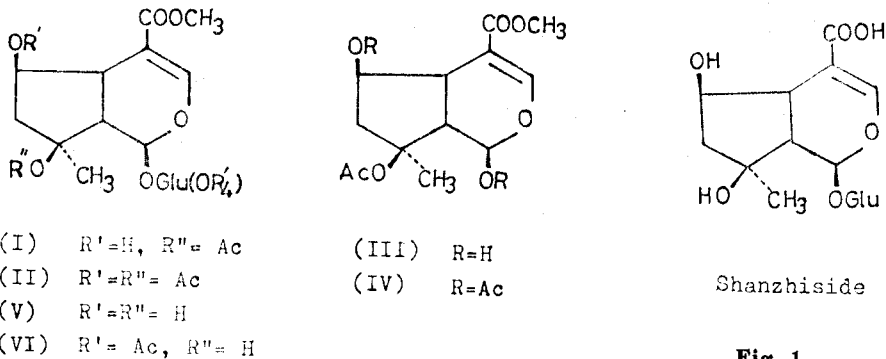


Fig. 1.

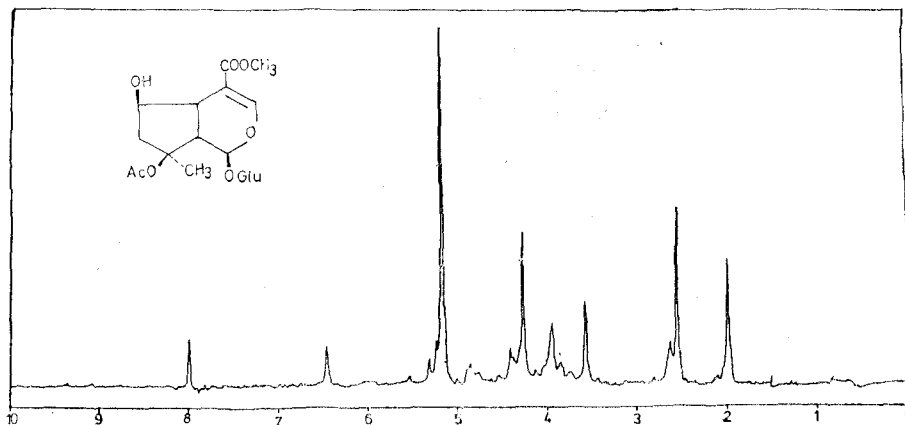
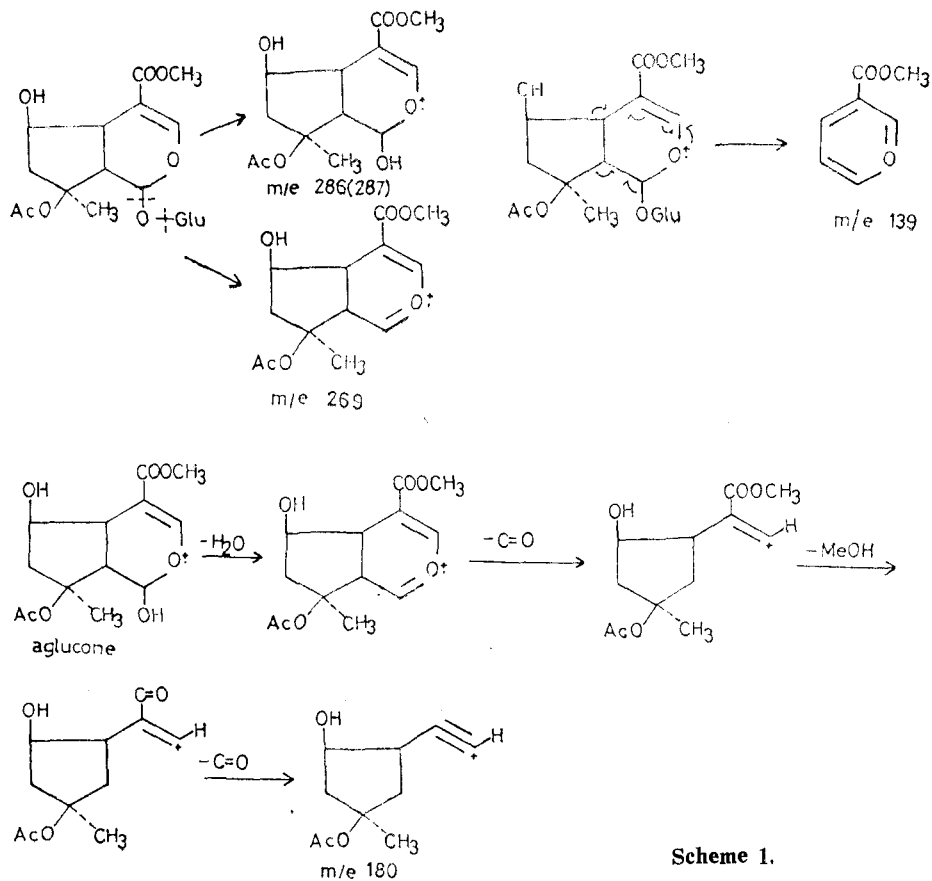


Fig. 2. PMR spectrum of Umbroside (I) (in D<sub>2</sub>O, external TMS standard)

C<sub>3</sub>-H가 δ 7.50 ppm에서 broad singlet로 나타났는데 이 사실은 carbonyl group이 conjugate된 enol-ether system을 뒷받침 하였다<sup>6)</sup>. δ 2.08 ppm에서 acetyl group을 확인하였고 δ 1.50 ppm에서 나타난 3H broad singlet으로부터 acetyl group이 8번

탄소에 연결되었음을 알 수 있었다. 그 외 δ 2.14 ppm에서 broad singlet으로 나타난 peak는 C<sub>6</sub>의 methylene이 보통 δ 2.60 ppm 근처에서 나타나고 C<sub>7</sub>의 methylene은 보통 δ 2.20 ppm 근처에서 나타나는 事實<sup>7)</sup>로 부터 C<sub>7</sub>의 methylene으로



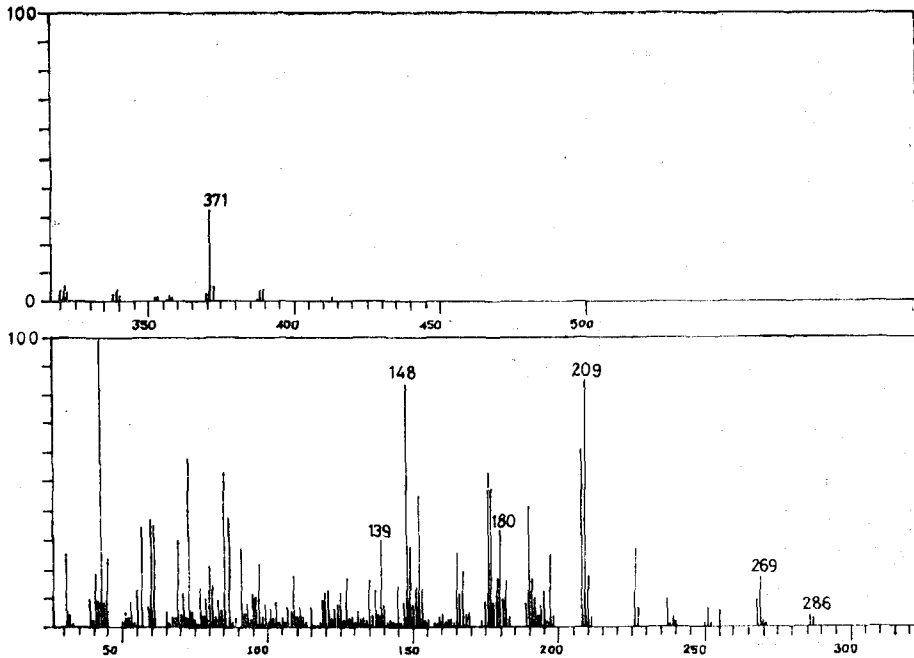


Fig. 3. Mass spectrum of Umbroside (I)

assignment하였다. 그리고  $\delta$  3.08 ppm에서 나타난 2H, broad singlet은  $C_5$  및  $C_9$ 의 methine proton이 겹쳐진 것으로 추정하였다<sup>8)</sup>. I의 mass spectrum에서 molecular peak는 없으나 286, 269에서 aglucone의 peak 및 139에서 pyrane ring 및 180에서 pentane ring의 치환기를 확인할 수 있었다. I을 mild condition에서 acetylation한 결과 pentaacetyl umbroside (II)를 형성하였다. II의 PMR에서  $\delta$  1.83~2.15 ppm에서 5개의 acetate group이 증가되었음을 알 수 있었고 7번 탄소 methylene이  $\delta$  2.2~2.5 ppm으로 약간 deshield되어 나타났으며  $\delta$  3.11 ppm에서  $C_5$ ,  $C_9$ 의 proton이 broad singlet으로 나타났다. I 및 II에서의  $C_9$ -H의 chemical shift로부터  $C_8$ 에 연결된 acetate group과 methyl group의 configuration을 각각  $\beta$  및  $\alpha$ 로 결정할 수 있었다<sup>5, 6a, 9)</sup>. I을  $\beta$ -D-glucosidase로加水分解하여 glucose와 aglucone (III)을 각각 얻었다. 이 결과로부터 o-glucosyl group이  $\beta$ -configuration으로  $C_1$ 에 연결되었음을 알 수 있었으며<sup>10)</sup> I의 PMR에서  $\delta$  4.78에  $C_1'$ 의 anomeric proton의 doublet ( $J=7\text{Hz}$ )가 확인됨으로써 이 사실이 뒷받침되었다. Aglucone (III)

을 즉시 acetylation한 결과 diacetate(IV)가生成되었다. IV의 PMR에서 2개의 acetyl group이  $\delta$  1.95~2.14 ppm에서 증가되어 나타났으며  $C_1$ -H가  $\delta$  6.73 ppm으로 예상되었던 down field shift를 나타내었다. 특히  $C_5$ -H와  $C_9$ -H이 각각  $\delta$  3.12~3.40 ppm 및  $\delta$  2.90~3.10 ppm에서 분리되어  $C_7$ -CH<sub>2</sub>가  $\delta$  2.16~2.50 ppm에서 multiplet으로 나타났으며 그 동안 糖의 proton에 가리워졌던  $C_6$ -H가 5.30~5.45 ppm에서 multiplet으로 나타났다.  $C_6$ 의 configuration 및  $C_8$ ,  $C_1$  configuration을 결정하기 위하여 I을 Ba(OH)<sub>2</sub>로 가수분해하였다. 이 결과  $C_8$ 의 위치의 acetate group이 가수분해되어 V를 생성하였다. 이것을 mild condition에서 acetylation하여 pentaacetate體인 VI를 얻었다. VI는 이미 구조 및 configuration이 밝혀진 shanzhiside pentaacetate methylester<sup>9, 11)</sup>와 그 평면구조가 같았고 두 물질을 mmp 및 IR spectrum으로 비교한 결과 일치하였다. 따라서 Umbroside의  $C_6$ -OH는  $\beta$  위치로 결합하였음을 알 수 있었고  $C_8$ ,  $C_1$ 의 configuration은 전술한 바와 같음을 확인할 수 있었다.

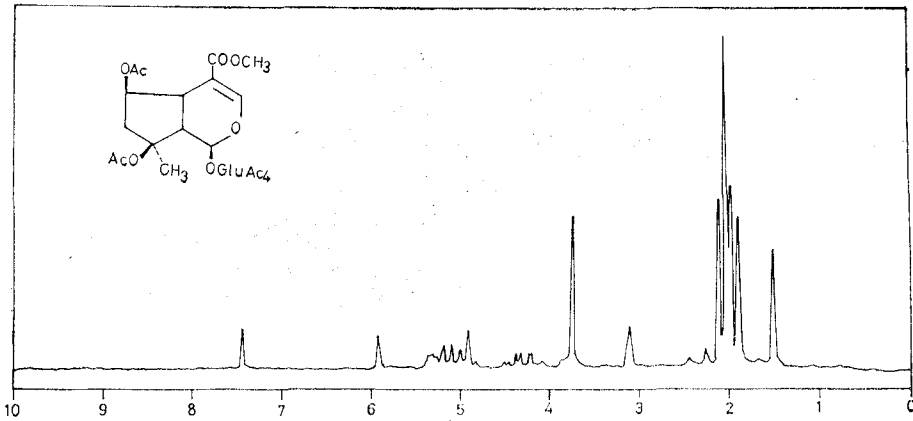


Fig. 4. PMR spectrum of II (in CDCl<sub>3</sub> internal TMS standard)

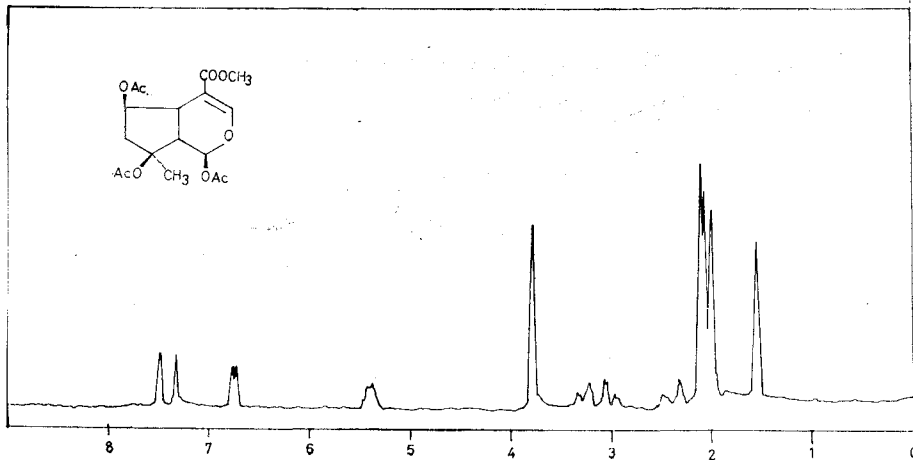
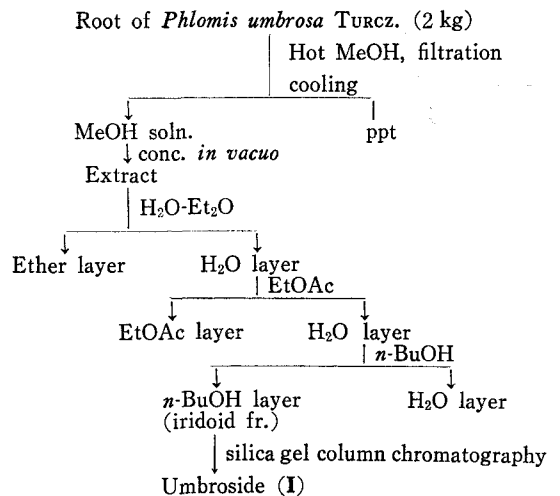


Fig. 5. PMR spectrum of IV (in CDCl<sub>3</sub>, internal TMS standard)

## 實 驗

### 가. 材料 및 抽出

續斷, 益母草와 夏枯草는 市販品을 자란초는 광릉에서 채집하여 陰乾한 것을 사용하였다. 이들 生藥을 각각 粗切하여 熱MeOH로 8시간 抽出한 후 減압농축하고 그 extract를 진공 desiccator에서 건조시켰다. 續斷의 iridoid成分 抽出은 Scheme 2와 같은 방법을 써서 하였다. 續斷 2kg을 粗切하여 MeOH 5 l로 3회 加熱抽出하여 溫時여과하고 室溫에 하룻밤 방치하였다. 이때 생성되는 樹脂狀物質을 여과한 후 減압농축 하였다. 이 MeOH extract를 차례로 ether, ethylacetate로 최종에는 n-BuOH로 分割하여 iridoid fraction으로 하였다.



Scheme 2. Isolation of Umbroside

### 나. 機器 및 試藥

이 實驗에 사용된 機器는 다음과 같다.

IR spectra: Beckman IR-20A (KBr disc)  
 UV spectra: Hitachi Spectrophotometer  
 PMR spectra: Perkin Elmer R-32 (90M Hz),  
 solvent D<sub>2</sub>O (external TMS standard),  
 CDCl<sub>3</sub> (internal TMS standard)  
 MP apparatus: Gallenkamp (uncorrected)

다. 抗癌實驗 및 結果

이 實驗에 사용한 動物은 서울大學校 實驗動物飼育場에서 기른 ICR-strain mouse (20~25 g) 이었고 癌種은 Sarcoma 180을 사용하여 mouse 50마리의 복강내에 癌細胞 0.1 ml (2×10<sup>6</sup> cell) 를 注射하여 이식하였다. 各群을 共히 10마리씩으로 하고 암세포를 이식한 후 3일이 경과한 후 부터 격일로 약물(100 mg/kg)을 5회 注射한 후 그 생존일을 측정하였다. 그 결과는 Table I과 같다.

Table I. Result of the Anticancer Activity

Scientific name	Used parts	Life span (standard error)
		25.56(0.68)
<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz.	rhizome	24.22(1.30)
<i>Ajuga spectabilis</i> Nakai	whole plants	21.90(2.18)
<i>Prunella asiatica</i> Nakai	whole plants	27.80(7.54)
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	whole plants	25.60(7.31)

夏枯草와 益母草에서는 각각 2마리가 실험최종일(39일)까지 생존하였다.

라. 成分의 單離

분획한 *n*-BuOH층을 감압농축한 후 silica gel column chromatography (CHCl<sub>3</sub>: MeOH=7:1) 를 사용하여 amorphous powder인 Comp. I (Umbroside)를 분리하였다. C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>12</sub>, [α]<sub>D</sub><sup>19</sup> -81.2 (c=0.49, in EtOH), mp 113~115°, anthrone test, Liebermann-Buchard reaction, SbCl<sub>3</sub> reaction에 양성이므로 iridoid핵을 가진 배당체임을 알 수 있었다.

UV<sub>max</sub><sup>EtOH</sup>: 231nm. IR (KBr disc): 3380cm<sup>-1</sup> (OH); 1715, 1730 (C=O); 1640 (C=C). PMR (D<sub>2</sub>O, external TMS standard): δ 7.50 (br., s., 1H, C<sub>3</sub>-H); 5.96 (br., s., 1H, C<sub>1</sub>-H); 4.78 (d., J=7Hz, anomeric proton), 3.78 (s., 3H, OMe);

3.08 (br. s., 2H, C<sub>5</sub>-H, C<sub>9</sub>-H); 2.14 (br. s., 2H, C<sub>7</sub>-H); 2.05 (s., 3H, C<sub>8</sub>-acetate); 1.50 (br. s., 3H, C<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>). MS: 388 (5%), 389 (5), 371 (33), 286 (5), 287 (5), 269 (16), 226 (25), 209 (86), 208 (58), 190 (40), 176 (50), 140 (82), 48 (100).

마. Umbroside pentaacetate(II)의 합성

Comp. I 50 mg에 無水 pyridine 및 Ac<sub>2</sub>O 각 1 ml씩을 가한 후 실온에서 24시간 반응시켰다. 반응액을 氷水에 가하여 반응을 종결시키고 석출된 침전을 여취하고 MeOH로 재결정하여 Umbroside pentaacetate (II) 45 mg을 얻었다.

mp 181~181.5°, [α]<sub>D</sub><sup>19</sup> -89 (c=0.28, EtOH). IR (KBr disc): 1760, 1725, 1710 (C=O); 1645 (C=C); 1230 (C-O-C). PMR (CDCl<sub>3</sub>, internal TMS standard): δ 7.45 (br. s., 1H, C<sub>3</sub>-H); 5.92 (s., 3H, OMe); 3.11 (br. s., 2H, C<sub>5</sub>-H, C<sub>9</sub>-H); 2.2~2.5 (m. 2H, C<sub>7</sub>-H): 1.83~2.15 (s. 18H, 6×acetate); 1.50 (br. s., 3H, C<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>).

바. Umbroside aglycone (III)의 제조

Comp. I 200 mg을 citrate buffer (pH 4.5)에 녹인 후 β-glucosidase 100 mg (Sigma Chem. Co.) 을 가하여 37°에서 24시간 반응시켰다. TLC로 반응의 종료점을 확인한 후 Et<sub>2</sub>O로 추출하고 감압농축 하였다. Preparative TLC로 정제하여 Comp. III 55 mg을 얻었다. 분리된 glucose는 당표준품과 함께 비교하여 TLC로 확인하였다.

사. Umbroside aglycone diacetate (IV)의 합성

Comp. III 55 mg에 無水 pyridine (0.5 ml) 및 Ac<sub>2</sub>O 1 ml를 가하여 실온에서 1시간 반응시킨 후 MeOH 3 ml를 가하여 20분간 방치시켰다<sup>6b)</sup>. TLC로 반응종료점을 확인하고 감압농축하였다. 이것을 preparative TLC로 정제하여 Comp. IV 34 mg을 얻었다.

PMR (CDCl<sub>3</sub>, internal TMS standard): δ 7.46 (br. s., 1H, C<sub>3</sub>-H); 6.73 (d., J=3Hz, 1H, C<sub>1</sub>-H); 5.30~5.45 (m., 1H, C<sub>6</sub>-H); 3.76 (s., 3H, OMe); 3.12~3.40 (m., 1H, C<sub>5</sub>-H); 2.90~3.10 (m., 1H, C<sub>9</sub>-H); 2.16~2.50 (m., 2H, C<sub>7</sub>-H); 1.95~2.14 (s., 9H, 3×acetate); 1.54

(br. s., 3H, C<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>).

아. Shanzhiside methylester (V)의 합성

Comp. I 100 mg을 포화 Ba(OH)<sub>2</sub> 20 ml로 실온에서 24시간 처리한 후 Ba(OH)<sub>2</sub>를 BaCO<sub>3</sub>로 침전시키고 여과하여 MeOH를 가하면서 감압농축하였다<sup>10)</sup>. Preparative TLC로 정제하여 Comp. V 45 mg을 얻었다.

자. Shanzhiside methyl ester pentaacetate (VI)의 합성

Comp. V 45 mg을 常法에 의하여 acetylation 하고 MeOH에서 재결정하여 침상결정 (VI) 40 mg을 얻었다. mp. 173~175°, IR (KBr disc): 3480 cm<sup>-1</sup> (OH); 1765, 1750, 1715 cm<sup>-1</sup> (C=O); 1650 cm<sup>-1</sup> (C=C).

結 論

續斷으로부터 iridoid compound를 분리하고 그 화학구조를 밝힌 결과 현재까지 天然에서는 보고된 바 없는 8-O-acetyl-shanzhiside-methylester (Umbroside)임을 확인하였다.

唇形科 植物인 續斷, 益母草, 夏枯草 및 자란초의 total extract로 sarcoma 180을 사용한 mouse의 抗癌實驗을 한 바 有意性있는 結果를 얻지 못했으나 iridoid compound만을 분리하여 실험하면 좋은 結果를 얻으리라 예상된다.

研究費를 지원한 產學協同財團에 感謝드리며, shanzhiside pentaacetate methyl ester의 標品을 보내주신 京都大學 藥學部 井上博之教授께 深謝드린다. 또한 機器分析을 맡아주신 Bonn大學의 P. Pachaly博士께도 感謝드리는 바이다.

參 考 文 獻

1. (a) J.M. Bobbitt, K.P. Segebarth in 'Cyclopent anoid Terpene Derivatives' W.I. Taylor and A.R. Battersby eds.; Marcel Dekker, New York, pp. 1-145 (1969).  
(b) O. Sticher in 'Plant Mono-, Di- and Sesquiterpenoids with Pharmacological or Therapeutical Activity, H. Wagner and P. Wolff eds.: Springer-Verlag, pp. 145-156 (1977).
2. S.M. Kupchan, A.L. Dessertine, B.T. Blaylock and R.F. Bryan: *J. Org. Chem.* **39**, 2477 (1974).
3. S. Jolad, J.J. Hoffmann, R.M. Wiedhopf and J.R. Cole: *Tetrahedron Letters*, 4119 (1976).
4. B.S. Chung, W.K. Chung, C.H. Kim. and M.W. Chun: *J. Pharm. Soc. Kor.*, **14**, 51 (1970).
5. B.S. Chung, H.K. Lee and J.W. Kim: *Kor. J. Pharmacog.*, **11**, 15 (1980).
6. (a) H. Rimpler: *Planta Medica*, **33**, 313 (1978).  
(b) A. Bianco, M. Guiso, C. Iavarone and C. Trogolo: *Gazz. Chim. Ital.*, **105**, 185 (1975).
7. A. Bianco, C. Bonii, M. Guiso, C. Iavarone and C. Trogolo: *Gazz. Chim. Ital.*, **107**, 67 (1977).
8. P. Eigtved, S.R. Jensen and B.J. Nielsen: *Acta Chim. Scand.* **B**, **28**, 85 (1974).
9. H. Inouye, S. Saito and T. Shingu: *Tetrahedron Letters*, 3581 (1970).
10. M. Guiso, R. Marini-Bettolo and A. Agostini: *Gazz. Chim. Ital.*, **104**, 25 (1974).
11. Y. Takeda, H. Nishimura and H. Inouye: *Phyto chemistry*, **16**, 1401 (1977).