

니코틴의 오존화 반응에 관한 연구

朴澤奎¹ · 金基煥 · 許泰聖*

건국대학교 문리과대학 화학과

*성심여자대학 화학과

(1984. 3. 2 접수)

Studies on Ozonation of Nicotine

Taek-Kyu Park¹, Ki-Hwan Kim and Tae-Sung Huh

Department of Chemistry, Kun Kuk University, Seoul 133, Korea

*Department of Chemistry, Song Sim College for Woman,

Bu-Cheon 150-71, Korea

(Received March 2, 1984)

요 약. 극성 용매인 물과 비극성 용매인 염화메틸렌에서 각각 니코틴을 당량의 오존과 반응시켜 그 생성물을 기체 크로마토그래피로 조사한 후 판 크로마토그래피 및 얇은 막 크로마토그래피를 이용하여 분리하였다. 이들 6가지 물질을 *N.M.R.*, *I.R* 및 Mass로 구조를 확인한 결과, 미반응의 니코틴 *l*-nornicotine, anabasine, β -nicotyrine, cotinine 및 nicotine-*N*-oxide 임이 밝혀졌다. 이 생성물들을 토대로 두 액상에서의 니코틴 오존화 반응은 피롤리딘 고리의 1' 위치에서 1차 산화가 일어나는 반응 메카니즘을 제안하였다.

ABSTRACT. Nicotine was reacted with an equimolar amount of ozone in methylene chloride and distilled water. The reaction mixture was separated by column chromatography or thin layer chromatography and then purified by vacuum distillation. The six compounds obtained from this reaction were characterized by NMR, IR and Mass spectrometry. These were identified as unchanged nicotine, nornicotine, anabasine, β -nicotyrine, cotinine and nicotine-*N*-oxide. From these results, reaction mechanism for the ozonolysis of nicotine was proposed; the pyrrolidine ring is attacked by ozone at the 1'-position followed by further transformation.

서 론

분자내에 질소를 포함하는 알칼로이드는 기호품, 의약품 또는 살충제로 널리 이용되어 왔다. 이들 중 니코틴은 Posselt와 Reimann¹에 의해 담배에서 분리되었으며 Jackson²에 의해 최초로 이 물질에 관한 총설이 발표되었다.

니코틴에는 몇 가지 이성질체가 있으나 천연에는 (-)형 만이 존재하며 Auzies³와 Späth⁴에 의해 합성된 것은 (±) 또는 (-)형이었다.

니코틴은 끄연 욕망을 일으키게 하는 생리 작

용 때문에 인체와 밀접한 관계를 갖게 되었으며, 이 물질의 화학반응 생성물이 인체에 미치는 영향에 관한 연구가 많이 이루어져왔다⁵⁻⁷.

즉, Kasaki⁸ 및 다른 열구자들⁹⁻¹³에 의하여 담배 중의 알칼로이드가 공기중의 산소나 미생물에 의해 변화되는 메카니즘이 많이 보고 되었다.

니코틴의 화학반응으로는 Binder¹⁴에 의한 ethylene oxide와의 반응, Pinner, Chakraborty 및 Preiss¹⁵⁻¹⁷등에 의한 과산화수소와의 반응등이 보고된 바 있다. 또한 Phillipson과 Craig¹⁸⁻¹⁹는 니코틴과 *m*-chloroperbenzoic acid와의 반응

에서 *n*-nicotine-1'-*N*-oxide 이성질체의 생성 비율에 대한 연구 결과를 Johnson²⁰은 과산화수소와의 반응에서 nicotine-1,1'-di-*N*-oxide 이성질체의 생성 비율에 대한 연구결과를 보고한 바 있다.

한편 Schepartz^{21,22}는 담배를 오존으로 처리하면 담배 연기중 방향족 탄화수소의 생성량이 현저하게 감소하였으며 페놀과 니코틴의 생성량도 감소하였다고 보고 하였다.

본 연구에서는 비극성 용매인 염화메틸렌과 극성 용매인 물을 각각 용매로 사용하여 니코틴을 오존화하고 그 생성물들을 분리하여 구조를 확인한 후 그 결과로부터 아직 연구된 바 없는 니코틴의 오존화 반응에 대한 메커니즘을 규명코자 한다.

결과 및 고찰

오존화 혼합물의 기체 크로마토그램을 Fig. 1에 나타냈다. Fig. 1의 A는 수용액 속에서의 오존화 반응, B는 염화메틸렌 용매에서의 오존화 반응의 기체 크로마토그램이다.

관 크로마토그래피를 써서 반응 생성물들을 A, B, C 세 부분으로 분리하였으며 A 부분의 분획 1에서는 기체 크로마토그램의 봉우리 5에 해당하는 물질을, 분획 2에서는 봉우리 4에 해당하는 물질을, 분획 3에서는 봉우리 1에 해당하는 물질을 각각 얻었다. B 부분의 분획 1

에서는 봉우리 2)에 해당하는 물질을, 분획 2에서는 봉우리 3)에 해당하는 물질을 얻었다. 그러나 C 부분의 물질은 기체 크로마토그램에 나타나지 않았으며 얇은막 크로마토그램으로만 검출, 분리할 수 있었다.

Table 1에 기체 크로마토그램과 얇은 막 크로마토그램의 각 봉우리와 점적들의 머무른 시간과 Rf 값을 나타냈다.

Fig. 1의 기체 크로마토그램의 봉우리 1에 해당하는 물질은 미반응의 니코틴 1로 밝혀졌으며, 봉우리 2는 nornicotine 6 봉우리 3은

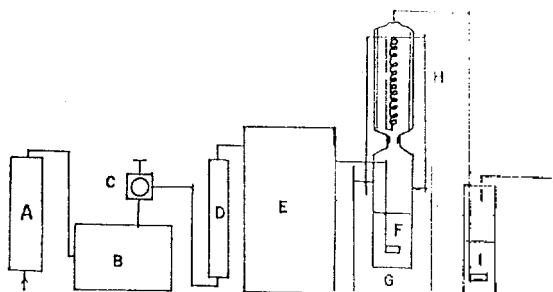


Fig. 1. Apparatus for the ozone oxidation of nicotine. A: silica gel trap. B: air compressor. C: pressure controller. D: air flow meter. E: ozonizer. F: reaction bottle (300ml). G: isotherm bath. H: condenser. I: potassium iodide solution.

Table 1. Thin layer chromatography and gas chromatography of oxidation products of nicotine with ozone

Fraction reaction product group	TEC (RF×100) eluent		G C	
	(a)	(b)	Retention (min.)	time Peak No.
A-Nicotyrine	87	92	25.98	4
Cotinine	75	76	47.45	5
Nicotine	77	8	8.35	1
B-Anabasine	50	6	13.83	3
Nornicotine	34	50	13.48	2
C-Nicotine-N-oxide	8	5	—	—

Plate: Glass plate (200×200×2mm). Absorbent: silica gel 60 (E. Merck for chromatography). Eluent: (a) chloroform-methanol-ammonia (60:1:1 v/v); (b) chloroform-methanol-acetic acid (60:10:1 v/v). Relative humidity: 55~60%. Temperature: 18~23°C. Detection of spot: chromatoplate were sprayed with a 1:1 mixture of 2% *p*-aminobenzoic acid in ethanol and 0.1M phosphate buffer pH 7.0 and then placed in a closed container with a few crystals of cyanogen bromides.

anabasine 15, 봉우리 4는 β -nicotyrine 13, 봉우리 5는 cotinine 8로 확인되었다. 기체 크로마토그램에서 검출되지 않은 C부분에서는 nicotine-N-oxide 3이 얻어졌다.

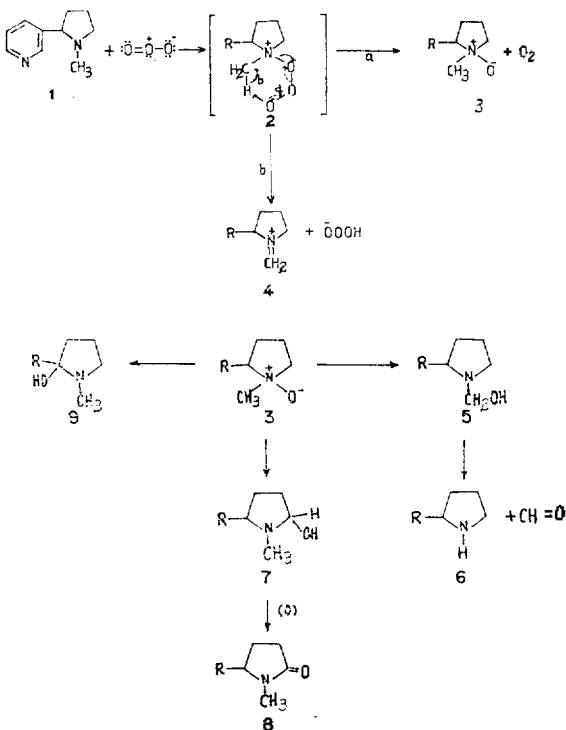
수용액에서의 반응에 의한 생성물들의 기체 크로마토그램에 나타났던 봉우리 a와 b는 분리 정제하지 않았다.

이상에서 살펴본 바와 같이 니코틴을 오존으로 산화하면 피롤리딘 고리는 산화되지 않고 피롤리딘 고리가 산화됨을 알 수 있다.

피롤리딘 고리의 오존화반응은 3차 아민의 오존화 반응²⁴에서처럼 다음과 같은 두가지 가능한 경로를 통해서 반응이 일어나리라고 예상된다.

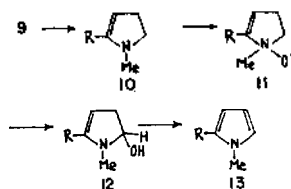
우선 오존이 피롤리딘 고리의 결소 원자를 공격하여 2와 같은 오존화물 중간체가 생성된 후 곧 a 경로에 따라 아민옥사이드 3으로 분해되거나 b 경로에 따라 결사슬의 수소와 작용하여 4로 변환되리라 예상된다.

아민옥사이드 3은 불안정하여 이웃 알킬기와 반응하여 알코올 중간체 5, 7, 9로 재배치될 것으

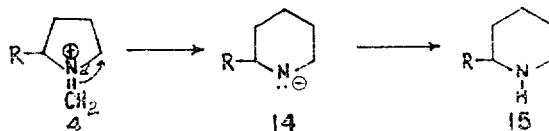


로 예상된다. 이 사실은 Craig²⁵ 등이 이미 니코틴의 탈메틸화반응에서 밝힌 바 있다.

중간체 5는 곧 생성물 6과 포름알데히드로 분해되며 9는 더 산화되어 10이 된 후 다시 오존에 의해 산화되어 11, 12를 거쳐 13이 얻어지는 것으로 예상된다.



중간체 4는 분자내 재배치가 일어나 14를 거쳐 생성물 15가 되리라 예상된다.



니코틴을 오존화하면 니코틴의 50%정도만이 산화되며 수용액 중에서는 이 생성물의 70%가 nicotine-N-oxide 3으로 되었다.

그러나 염화메틸렌 속에서는 이 생성물 3이 흔적량 얻어졌다. 이 사실은 니코틴이 산화되면 중간체로서 3이 생성됨을 입증해 준다. 염화메틸렌과 같은 비극성 용매 속에서는 생성된 중간체 3이 불안정하므로 곧 다음 과정으로 산화되는 것으로 생각된다. nicotine-N-oxide를 제외한 다른 생성물들의 염화메틸렌 속에서의 생성비 6:15:13:8=18:9:9:64와 수용액속에서의 생성비 6:15:13:8=18:6:6:70가 거의 일치하는 것으로 보아 같은 중간체 3을 거치고 있음을 알 수 있다. 특히 생성물 6, 8 및 15의 수득율이 두 용매 속에서 다 같이 90% 이상인 것으로 보아 대부분 3과 같은 중간체를 거치며, 소량만이 결사슬이 산화되는 중간체 4를 거치는 것으로 생각된다. 또 생성물 8이 전체 생성물의 70%정도 얻어지는 것으로 보아 3→7→8을 거치는 단계가 주반응인 것으로 생각된다.

실 험

시약 및 기기. 출발물질인 니코틴은 E. Merck

제를, 메탄올, 클로로포름 및 실리카겔 등은 E. Merk 제 크로마토그래피용을 사용하였다. 염화메틸렌은 Fischer 제를 사용하였고, 그밖의 시약은 Tokyo Kasei 1 급 시약을 사용하였다.

NMR 분광기는 Brucker 제 FTQ NMR (80 MHz)를 적외선분광기는 Perkin-Elmer 599B를, 질량분석기는 Varian MAT 212 (170eV)를, 기체 크로마토그래피는 Hewlett Packard Model 5880을 사용하였다.

오존화 반응. 오존화 반응은 Fig. 1과 같은 장치를 사용했으며 오존은 풍기를 방전시켜 시간당 4.83×10^{-3} 몰이 생성되도록 하였다. 5g (0.03 몰)의 니코틴을 130ml의 물 및 염화메틸렌에 용해하여 오존화장치 "F"에 넣고 수용액은 0°C에서, 염화메틸렌 용액은 -78°C에서 1시간동안 각각 오존화하였다. 반응이 끝난후 반응액을 잘 저어 주면서 서서히 실온으로 올려준 다음, 하룻동안 방치한 후 20mmHg에서 감압 증류하였다.

반응 생성물의 분리. 반응 생성물은 판 크로마토그래피 (14mm×550mm, 실리카겔 70~230 mesh)로 분리하였다.

용리액은 클로로포름-메탄올-암모니아수 (60 : 10 : 1 v/v)를 사용하여 A, B, C 세부분으로 분리할 수 있었다.

A부분을 다시 판 크로마토그래피 (7mm×500mm, 실리카겔 70~230mesh, 용리액 : 클로로포름-메탄올-무수아세트산 (60 : 10 : 6 v/v)로 분리하여 분획 1 (5~8ml), 분획 2 (8~15ml) 및 분획 3을 얻었다.

B부분을 다시 판 크로마토그래피 (용리액 : 클로로포름-메탄올-암모니아수 (60 : 10 : 1 v/v)로 분리하여 처음 50ml는 버리고 분획 1 (첫번째 적색띠)과 분획 2 (두번째 적색띠)를 얻었다.

수용액을 용매로 사용한 반응 혼합물의 A와 B부분도 용리액으로 용출시킨 후 판 크로마토그램의 실리카겔에 남아있는 C부분으로부터 얇은 막 크로마토그램에서 Rf 값이 0.08인 강한 점적을 얻었다. 염화메틸렌을 용매로 사용한 반응물에서는 흔적량의 점적만을 확인하였을 뿐이다.

니코틴 1의 분리. A부분의 분획 3의 용출액

을 감압 증류하여 (17mmHg, 123~125°C) 무색 또는 연황색인 니코틴을 수용액 반응물에서는 2.45g (49%), 염화메틸렌에서는 2.3g (45%)을 각각 얻었다.

¹H-NMR (CDCl₃) ; δ 8.55ppm (d, 1H, C-2H), 8.49 (d, 1H, C-6H), 7.78 (m, 1H, C-7H), 7.22 (m, 1H, C-4H) 3.21 (m, 3H, C-2'H, C-5'H), 2.18 (s, 3H, N-Me) 1.86 (m, 4H, C-3'H, C-4'H)

MS; m/e 162 (M⁺), 133, 119, 84 (base)

β-Nicotyrine 13의 분리. A부분의 분획 1을 감압 증류하여 (16mmHg, 150~151°C) 암갈색인 기름 상태의 β-nicotyrine을 수용액 반응물에서는 0.05g (1%), 염화메틸렌에서는 0.25g (5%)을 각각 분리하였다.

¹H-NMR (CDCl₃) ; δ 8.69ppm (d, 1H, C-2H), 8.52 (d, 1H, C-6H), 7.75 (m, 1H, C-4H), 7.32 (m, 1H, C-5H), 6.78 (t, 1H, C-5H), 6.23 (m, 2H, C-3'H, C-4'H), 3.68 (s, 3H, N-CH₃)

MS; m/e 158 (M⁺), 130, 78 (base)

Cotinine 8의 분리. A부분의 분획 2를 감압 증류하여 (6mmHg, 210~211°C) 무색의 점성 기름 상태의 cotinine을 수용액 반응물에서는 0.69g (13.7%), 염화메틸렌 반응물에서는 1.8g (3.5%)을 각각 분리하였다.

¹H-NMR (CDCl₃) ; δ 8.28~8.48ppm (m, 2H, C-2H, C-6H), 7.15~7.48 (m, 2H, C-HH, C-5H) 4.31~4.62 (t, 1H, C-2H), 2.56 (s, 3H, N-CH₃) 2.26~2.52 (t, 2H, C-3H), 1.62~2.05 (m, 2H, C-4H)

IR (CHCl₃) : 1680cm⁻¹ (C=O)

MS; m/e 176 (M⁺), 99 (base)

Anabasin 15의 분리. B부분의 분획 1을 감압 증류하여 (14mmHg, 145~147°C) 갈색의 anabasin을 수용액 반응물에서는 0.06g (1.1%), 염화메틸렌 용액에서는 0.25g (5%)를 각각 분리하였다.

¹H-NMR (CDCl₃) ; δ 8.60ppm (m, 2H, C-2H, C-6H), 7.72 (m, 1H, C-4H), 7.26 (m, 1H, C-5H), 3.28 (m, 3H, C-2H, C-6H), 2.28 (s, 1H, N-H)

IR(CHCl₃): 3300cm⁻¹(NH)

MS; m/e 162(M⁺), 84(base)

Nornicotine 6의 분리. B부분의 분획 2의 용출액을 11mmHg, 131°C에서 감압 증류하여 갈색 기름 상태의 nornicotine을 수용액 반응물에서는 0.18g(3.5%), 염화메틸렌 용액에서는 0.5g(10%)을 각각 분리하였다.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.59ppm(*d*, 1H C-2H), 8.45(*dd*, 1H, C-6H), 7.76(*m*, 1H, C-4H), 7.72(*m*, 1H, C-5H), 4.11(*t*, 1H, C-2H), 3.08(*m*, 2H, C-5H), 2.48(*s*, 1H, N-H), 1.98(*m*, 4H, C-3H, C-4H), 1.15~1.92(*m*, 6H, C-3H, C-4H, C-5H),

IR(CHCl₃): 3310cm⁻¹(NH)

MS; m/e 147(M⁺), 118, 70(base)

Nicotine-N-Oxide 3의 분리. 수용액 반응물 C부분을 100% K₂CO₃로 알칼리화하여 디에틸 에테르 100ml로 세척하여 반응물중 미반응의 니코틴을 제거하고, 수용액층을 클로로포름 및 클로로포름-메탄올(9:1)로 연속 추출하여 추출물을 합하였다. 용매를 제거한 다음 -30°C에서 10시간 동안 냉동 건조하여 기름상태의 갈색 물질을 1.8g을 얻었다. 이를 다시 100°C(0.01mmHg)에서 진공 승화시켜 mp 172~173°C(문헌치²³: 172~173°C)인 백색 결정을 1.5g(30%) 얻었다.

인용문헌

1. Posselt and Reimann, *Mag. Pharm.*, **24**, 138 (1928).
2. K. E. Jackson, *Chem. Rev.*, **29**, 123 (1941).
3. Auzies, *Chem. Abstracts*, **6**, 1959 (1912).
4. Späth and Bretschneider, *Ber.*, **61**, 327 (1928).
5. R. Preussmann, G. Eisenbrand and D. Schmahl, *Intn. Agency Res. Cancer Sci. Publ.*, **14**, 429 (1976).

6. W. Liginsky and H. Taylor, *Cancer Res.*, **36**, 1988 (1976).
7. D. Hoffmann, M. Dong and S. S. Hecht, *J. Nat. Cancer Inst.*, **58**, 1841 (1977).
8. T. Kasaki, S. Maeda, A. Koiwai, Y. Mikami, T. Sasaki and H. Matsubita, *Beit. Tabakfor. Inter.*, **9**(57), 308 (1978).
9. W. G. Frankenburg and A. M. Gottscho, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5728 (1955).
10. G. S. Hyin, *Proceeding Actes du Congres*, 251 (1970).
11. J. W. Hylin, *J. Bact.*, **76**(1), 36 (1958).
12. E. Wada, *Arch. Biochem. Biophys.*, **72**, 145 (1957).
13. W. G. Frankenburg, A. M. Gottscho and A. A. Vaitekunas, *Tob. Sci.*, **9** (1958).
14. H. Bindera and W. Linder, *Austria Tabakwerke A.G., Faehliche Mitt.*, **13**, 215 (1972).
15. Pinner and Wolfenstein, *Ber.*, **24**, 61 (1891).
16. M. K. Chakraborty, B. S. Ranachandradn and C. B. Sarma, *Indian J. Agric. Sci.*, **39**(3), 229 (1969).
17. Preiss, *Z. Untersuch Lebensm.*, **74**, 314 (1937).
18. J. D. Phillipson and S. S. Handa, *Phytochemistry*, **14**, 2683 (1975).
19. J. C. Craig and K. K. Purushothmann, *J. Org. Chem.*, **35**, 1721 (1970).
20. A. W. Johnson, T. J. King and J. R. Turner, *J. Chem. Soc.*, 3230 (1958).
21. A. I. Schepartz, J. J. Ellington and W. S. Schlotghauer, *Tob. Sci.*, **24**, 56 (1980).
22. A. I. Schepartz, A. C. Mottola, W. S. Schlotghae, D. W. Dejong and J. J. Lam, *Tob. Sci.*, **25**, 120 (1981).
23. W. G. Frankenburg and A. A. Vaitekunas, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 149 (1957).
24. P. S. Bailey, *Ozonation in Organic chemistry* Vol. II. Academic Press, P.200, 1982.
25. J. C. Craig, N. Y. Mary, N. L. Goldman and L. Wolf, *J. Amer. Chem. Soc.*, **86**, 3866 (1964).