

韓國產 附子類 生藥에 관한 연구(IV.)

진범 (*Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*)의 diterpene alkaloid에 대하여

鄭 普 燮 · 李 炫 宣

서울대학교 약학대학

Studies on Korean *Aconitum* Species(IV).

Alkaloids of *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*

Bo Sup Chung and Hyun Sun Lee

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Abstract—Two C₁₉-diterpene alkaloids were isolated from the root of *Aconitum pseudolaeve* var. *erectum* Nakai, and indentified as lycoctonine and septentriodine by UV, IR, MS and NMR data.

Keywords—*Aconitum pseudolaeve* var. *erectum* · Ranunculaceae · C₁₉-diterpene alkaloids · lycoctonine type · lycoctonine · septentriodine

秦艽은 「神農本草經」의 中品에 수재된 藥物로 서 예로부터 해열·진정·이뇨·진통약으로 사용되어 왔다.^{1,2)} 秦艽의 基源으로는 Gentianaceae에 속하는 *Gentiana macrophylla* Pall., *Gentiana straminea* Maxim., *Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk.와 *Gentiana tibetica* King.의 根莖으로 기재되어 있고,³⁾ 中國藥典⁴⁾에는 *Gentiana tibetica* King. 대신 *Gentiana daurica* Fisch.로 기재되어 있다. 한편 우리나라에서는 中國產 秦艽의 기원식물인 Gentiana속 식물과는 전혀 다른 Aconitum속 식물이 사용되고 있음은 여러 문헌을 통하여 알 수 있으며,^{5,6,7)} 1983년 盧 등은 「秦艽과 오독도기根의 비교 연구」를 통하여 韓國產 진범(一名 오독도기)이 秦艽으로 오용되고 있음을 지적하면서, 이뇨·진통·소염·해열효과는 인정하나 오독도기根은 毒性이 있으므로 秦艽의 대용으로 사용할 수 없음을 지적한 바 있다.

현재 우리나라에는 진범(*Aconitum pseudolaeve* var. *erectum* Nakai), 흰진범(*Aconitum logicas-*

idatum Nakai)⁹⁾과 줄오독도기(*Aconitum pseudolaeve* Nakai var. *volubile* Nakai)¹⁰⁾가 보고되어 있으며 이들의 根部를 藥用으로 사용하고 있다. 이와 같이 中國產 秦艽과는 다른 속인 Aconitum 속을 사용하고 있어 이들의 유효성분, 임상적 약효 등의 연구가 필요하다고 생각되며, 이의 목적으로 진범의 성분 연구에 착수하게 되었다.

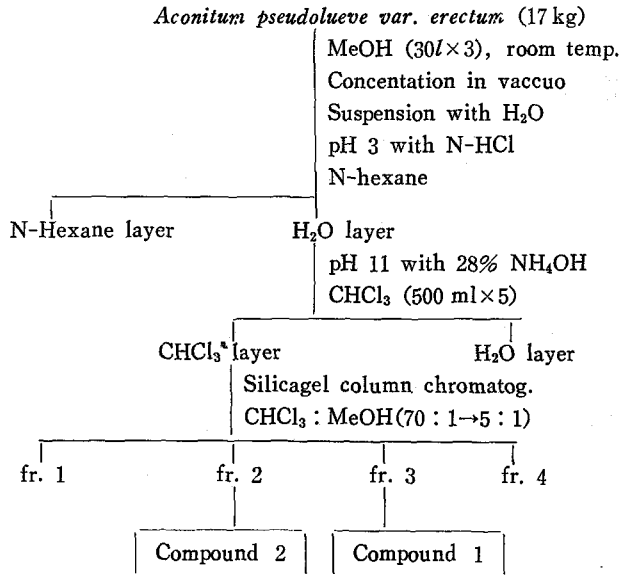
실 험

1. 재 료

진범은 1986년 9월 강원도 태백시 부근 산지에서 지하부를 채집하여 음건 후 조말로 하여 사용하였다.

2. 시약 및 기기

Column chromatography用 silica gel은 silica gel 60(70~230 mesh, Merk)를 사용하였고, TLC用 plate로는 pre-coated silica gel 60F₂₅₄ plate (layer thickness 0.25 mm, 20×20 cm, Merk)를



Scheme 1. Extraction and separation of compounds from the roots of *A. pseudolaeve* var. *erectum*.

사용했다. 발색은 dragendorff시약, anisaldehyde-H₂SO₄을, 용매는 식물재료를 추출할 때만 공업용을 증류하여 사용했으며 기타 시약은 특급시약을 사용했다.

Mp는 Gallenkamp melting point apparatus (uncorrected), IR은 Beckmann IR-20A spectrophotometer, NMR은 Varian model FT80A와 Varian model FT200A spectrometer, MS는 Hewlett-packard model HP 5985B GC/MS system, UV는 LKB(Biochrom) Ultraspec 4050UV spectrophotometer. 원소분석; Perkin-Elmer 240 C elemental analyzer

3. 추출 및 분리

진법의 지하부 17 kg을 조말로 하여 methanol 30 l씩 3회(1회 48시간씩) 실온에서 가끔 진탕하면서 추출하였다. 추출액을 45° 이하에서 감압 농축하여 500 ml로 하고 여기에 증류수 1.5 l를 가하여 현탁시켰다. 이 현탁액을 N-HCl로 pH 3을 맞춘 후 scheme 1과 같이 처리하여 alkaloid 분획 390 g을 얻었다.

4. 화합물의 분리

Alkaloid 분획 230 g을 silica gel column chromatography를 실시하였다. 용매는 CHCl₃부터 시작하여 CHCl₃ : MeOH(70 : 1→50 : 1→30 : 1→20 : 1→10 : 1→5 : 1)로 용출시켜 TLC에 의해

alkaloid를 중심으로 4개의 fraction으로 나누었다.

1) Compound 1의 분리

Fr. 3을 CHCl₃ : MeOH(8 : 1) 용매로 silica gel column chromatography를 행한 후 N-Hexane : CHCl₃ : MeOH(5 : 3 : 2)로 recolumn-chromatography를 실시하였다. Dragendorff 시약과 anisaldehyde-H₂SO₄에 단일하게 발색되는 R_f 0.45 분획을 acetone 용매에서 재결정하여 백색침상결정(mp 112~114°) 570 mg을 얻었다.

Anal. Calcd. C₂₅H₄₁NO₇ : C, 64.25, H, 8.77, N, 3.00; Found, C, 64.30, H, 8.80, N, 2.97.

IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹) : 3450, 1100cm⁻¹; ¹H-NMR (C₅D₅N, 80 MHz) δ : 1.15(3H, t, J=7 Hz, N-CH₂-CH₃), 3.26, 3.27, 3.46, 3.47 (each 3H, s, -OCH₃); MS (70eV) m/z(rel. int.) : 467(M⁺, 4.9), 452(M⁺-CH₃, 29), 436(M⁺-OCH₃, 100), 434(M⁺-CH₃-H₂O, 26.4); ¹³C-NMR(20 MHz, CDCl₃ and C₅D₅N); Table I 참조.

2) Compound 2의 분리

Fr. 1을 CHCl₃ : NH₄OH(20 : 1, lower phase) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 R_f 0.23에 해당하는 단일 spot를 모았으며 백색의 무정형으로서 결정으로 유도하지 못했다.

Table I. Carbon-13 chemical shifts and assignments for Compound 1 and related alkaloids lycoctonine(1), browniine(2), delsoline(2), delsoline(3), gigaconine(4)^{a)}

Carbon	Compound 1		1 ¹¹⁾	2 ¹¹⁾	3 ¹¹⁾	4 ¹⁵⁾
	CDCl ₃	C ₅ D ₅ N				
1	84.2	84.5(CH) ^{b)}	84.2	85.2	72.6	72.7
2	26.0	26.6(CH ₂)	26.1	25.5	27.2	29.4
3	31.4	32.2(CH ₂)	31.6	32.5	29.3	30.5
4	38.5	38.8(C)	38.6	38.4	37.4	38.2
5	43.2	43.6(CH)	43.3	45.1	43.9	44.7
6	90.6	91.1(CH)	90.6	90.1	90.4	90.6
7	88.4	88.9(C)	88.3	89.1	87.8	87.8
8	77.4	77.6(C)	77.5	76.3	78.5	78.5
9	49.6	50.5(CH)	49.7	49.6	44.9	43.4
10	38.0	38.3(CH)	38.0	36.4	37.7	44.0
11	48.9	49.0(C)	48.9	48.2	49.3	49.4
12	28.7	29.0(CH ₂)	28.8	27.5	30.5	26.7
13	46.1	46.3(CH)	46.1	46.1	43.3	37.8
14	84.0	84.3(CH)	84.0	75.3	84.5	84.6
15	33.6	34.5(CH ₂)	33.7	33.1	33.5	33.5
16	82.6	83.3(CH)	82.7	81.7	82.9	83.0
17	64.7	65.2(CH)	64.8	65.4	66.0	66.1
18	67.9	67.1(CH ₂)	67.6	78.0	77.3	66.8
19	52.8	53.3(CH ₂)	52.9	52.7	57.2	57.3
N-CH ₂	50.9	51.2	51.1	51.3	50.3	50.4
CH ₃	14.0	14.1	14.1	14.3	13.5	13.6
1-OCH ₃	55.6	55.3	55.7	56.0	—	—
6-OCH ₃	57.6	57.1	57.7	57.5	57.2	57.7
14-OCH ₃	58.1	57.5	58.0	—	59.9	57.7
16-OCH ₃	56.1	55.4	56.2	56.5	56.3	56.4
18-OCH ₃	—	—	—	59.1	59.1	—

^{a)} Chemical shift in ppm downfield from TMS, solvent CDCl₃.^{b)} The character of each carbon was assigned by ¹³C-NMR APT spectrum.

UV, $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$: 308, 256, 250, 222 nm; IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3480(OH), 3320(NH), 1740, 1705, 1690(carbonyls), 1608, 1590(aromatics), 1090, 1260, 759cm⁻¹; ¹H-NMR(CDCl₃, 80MHz) δ : 0.95(3H, t, $J=7$ Hz, N-CH₂-CH₃), 2.63(4H, s, CO(CH₂)₂CO), 3.13, 3.21 (each 3H, s, -OCH₃), 3.27(6H, s, 2×OCH₃), 3.56(3H, s, COOCH₃), 7.07(1H, t, $J=8$ Hz, ArH), 7.42 (1H, t, $J=8$ Hz, ArH), 7.86(1H, d, $J=8$ Hz, ArH) 8.57(1H, d, $J=8$ Hz, ArH), 10.94(1H,

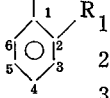
b.s., NHCO); MS m/z (rel. int.), 700(M⁺, 0.1), 685(M⁺-OCH₃, 88.8), 637 (base peak) 452(16.2), 436(64.2), 233(7.7), 234(16.1) 202, 174, 146, 120; ¹³C-NMR(CDCl₃, 20 MHz); Table II 참조.

II. 실험

1. Compound 1

이 화합물은 dragendorff 시약에 양성으로 나

Table II. Carbon-13 chemical shifts and assignments for compound 2 and related alkaloids^{a)}

Carbon	compound 2	lycoctonine ¹¹	septentriodine ¹⁶⁾	puberaconitine ¹⁸⁾
1	83.9(CH) ^{b)}	84.2 ^{c)}	84.0	83.8
2	26.1(CH ₂)	26.1	26.1	25.7
3	32.2(CH ₂)	31.6	31.6	31.7
4	37.6(C)	38.6	37.6	37.5
5	43.3(CH)	43.3	43.3	43.2
6	91.0(CH)	90.6	91.1	90.9
7	88.6(C)	88.3	88.7	88.3
8	77.5(C)	77.5	77.6	77.7
9	50.5(CH)	49.7	50.4	50.3
10	38.2(CH)	38.0	38.1	37.9
11	49.1(C)	48.9	49.1	49.0
12	28.7(CH ₂)	28.8	28.7	28.7
13	46.1(CH)	46.1	45.9	45.9
14	83.9(CH)	48.0 ^{c)}	83.8	83.8
15	33.7(CH ₂)	33.7	33.6	33.6
16	82.6(CH)	82.7	82.5	82.5
17	64.5(CH)	64.8	64.5	64.5
18	69.8(CH ₂)	67.6	69.2	69.2
19	52.4(CH ₂)	52.9	52.5	52.5
N-CH ₂	51.0(CH ₂)	51.1	51.0	50.9
CH ₃	14.0(CH ₃)	14.1	14.1	13.7
1'	55.8(CH ₃)	55.7	55.9	55.7
6'	57.9(CH ₃)	57.7	57.9	57.6
14'	58.1(CH ₃)	58.0	58.1	58.0
16'	56.3(CH ₃)	56.2	56.4	56.1
-C=O	168.0(C)	—	168.3	168.0
	114.6(C)	—	114.7	114.7
2	141.7(C)	—	141.9	141.6
3	120.7(CH)	—	120.8	120.7
4	134.9(CH)	—	135.2	134.8
5	122.7(CH)	—	122.8	122.5
6	130.3(CH)	—	130.5	130.3
R=NH-CO	170.3(C)	—	170.6	170.7
CH ₂	28.9(CH ₂)	—	28.9	29.5
CH ₂	32.7(CH ₂)	—	32.7	29.8
CO	173.0(C)	—	173.3	170.7
R'	51.9(CH ₃) (R'=OCH ₃)	—	R'=OCH ₃ (51.9)	(R'=OH)

^{a)} Chemical shifts in ppm downfield from TMS, solvent CDCl₃.

^{b)} The character of each carbon was assigned by ¹³C-NMR APT spectrum.

^{c)} These assignments may be interchanged in any vertical column.

타났으며, MS와 원소분석으로 부터 분자량 467 (M^+), $C_{25}H_{41}NO_7$ 의 분자식을 갖는 것을 알 수 있다.

1H -NMR spectrum은 δ 1.15에서 $N-CH_2-CH_3$ (3H, t, $J=7Hz$), δ 3.26, 3.27, 3.46, 3.47에서 4개의 aliphatic methoxyl group을 보여주며, ^{13}C -NMR 상에서 총 25개의 탄소중 $N-CH_2-CH_3$ (50.9 ppm, 14.0 ppm)와 $4 \times OCH_3$ (55.6, 56.1, 57.6, 58.1 ppm)의 6개 탄소를 제외하면 기본골격이 19개의 탄소로 이루어진 C_{19} -diterpene alkaloid로 추정할 수 있다.

특히 90.6 ppm(CH), 88.4 ppm(C)은 이 화합물이 lycoctonine type 으로 $C_6-\beta-OCH_3$, C_7-OH , 의 존재를 나타내고 있다.²⁰⁾ C_8-OCH_3 인 경우 C_8-OH 보다 C_7 과 C_8 의 chemical shift가 2~3 ppm 저자장으로 이동되어 나타나고 있으나(ambiguine,²¹⁾ C_7 : 90.0 ppm, C_8 : 80.4 ppm, septentrionine,¹⁶⁾ C_7 : 90.4 ppm, C_8 : 80.9 ppm) compound 1의 77.4 ppm(C)은 이들보다 고자장에서 나타나고 있으며 Table I의 browniine, delsoline, gigactonine과 비교함으로써 C_8-OH 의 chemical shift에 해당하는 것을 알 수 있다.

$C_1-\alpha-OH$ 인 경우 A-ring은 lone-pair electron 과 수소결합을 하여 boat form으로 안정화되며, 이때 C_1 은 ~ 72 ppm(desoline¹¹⁾: 72.6 ppm)에서 나타나게 된다. Methoxyl로 치환된 경우 수소결합이 형성되지 않아 chair form으로 되어 $C_1-\alpha-OH$ 의 chemical shift보다 10 ppm 이상 저자장으로 이동되어 ~ 84 ppm(browniine¹¹⁾: 85.2 ppm)에서 나타나게 된다.^{12,13)}

^{13}C -NMR의 84.2 ppm과 MS spectrum에서 m/z 436(M^+-31)의 base peak는 $C_1-\alpha-OCH_3$ 의 존재를 확증해 준다.¹⁴⁾ 천연에서 나타나는 모든 C_{19} -diterpene alkaloid는 $C_{16}-\beta-OCH_3$ 를 갖고 있으며, 82.6 ppm의 chemical shift는 16번 탄소에 해당된다. 4개의 methoxyl기중 $C_1-\alpha-OCH_3$, $C_6-\beta-OCH_3$ 를 제외한 1개의 methoxyl기의 위치는 다음과 같이 결정할 수 있다. C_{14} 에 hydroxyl 기가 치환된 경우 74~77 ppm (browniine: 75.3 ppm), methoxyl인 경우 83~85 ppm (delsoline: 84.5 ppm)에서 나타나게 되며 C_{18} 은 methoxyl 기의 치환으로 77.5~79.5 ppm(delsoline: 77.3

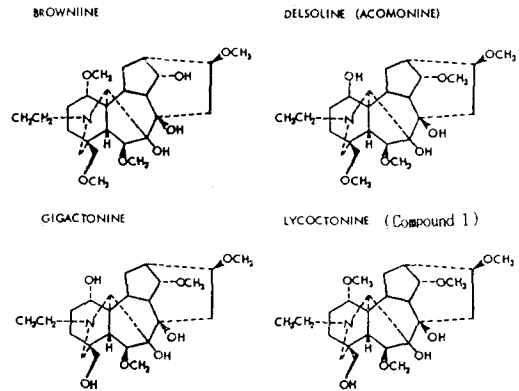
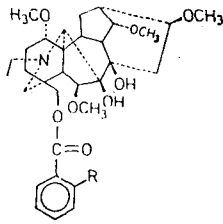


Fig. 1. Structures of compound 1 and related alkaloids

ppm, browniine: 78.0 ppm), hydroxyl의 치환으로 66.5~68.5 ppm(gigactonine:¹⁵⁾ 66.8 ppm)에서 나타나게 된다. 이로써 compound 1의 84.0 ppm(CH)와 67.9 ppm(CH₂)은 $C_{14}-\alpha-OCH_3$, $C_{18}-OH$ 에 해당함을 알 수 있다. 이상과 같은 결과로 여러 spectral data를 비교해 볼 때 이 화합물은 $C_1-\alpha-OCH_3$, $C_6-\beta-OCH_3$, C_7-OH , C_8-OH , $C_{14}-\alpha-OCH_3$, $C_{16}-\beta-OCH_3$, $C_{18}-OH$ 를 갖는 lycoctonine으로 동정했다.

2. Compound 2

이 화합물은 백색의 무정형으로 dragendorff 시약에 양성을 나타낸다. IR spectrum은 OH와 NH(3480과 3320 cm^{-1}), carbonyls(1740, 1705, 1690 cm^{-1})와 aromatic system(1608, 1590 cm^{-1})의 흡수를 보여주며, UV spectrum은 anthranilic acid 유도체의 흡수를 나타낸다.¹⁹⁾ (λ_{max}^{OH} 250, 308 nm). 1H -NMR spectrum은 $N-CH_2-CH_3$ (3H, t, $J=7Hz$, δ 0.95), $COCH_2CH_2CO$ (4H, s, δ 2.63), 5개의 methoxyl group (each 3H, s, δ 3.13, 3.21, 6H, s, $2 \times OCH_3$, δ 3.27, 3H, s, $COOCH_3$, δ 3.56)과 δ 10.94(1H, bs.)에서 secondary amide proton에 기인한 signal을 보여 준다. 또한 7.07~8.57에서 나타나는 2개의 doublet와 2개의 triplet는 J value 8 Hz로서 anthranoyl group의 aromatic proton의 존재를 나타낸다.¹⁶⁾ ^{13}C -NMR spectrum은 총 37개의 signal을 보여주며, anthranilic acid 유도체의 치환기를 제외한 나머지 탄소의 chemical shift는 69.8 ppm을 제외하고는 거의 일치하며, 이 69.8



- R=NH₂ Anthranoyllycoctonine
 R=NHCOCH₃ Ajacine
 R=NHCOCH₂CH₂CONH₂ Avacharidine
 R=NHCOCH₂CH₂CO₂CH₃ Septentriodine (Compound 2)
 R=NHCOCH₂CH₂COOH Puberaconitine

Fig. 2. Structures of compound 2, and related alkaloids

ppm은 lycoctonine(compound 1)의 C₁₈의 chemical shift인 67.6 ppm 보다 2.2 ppm downfield shift한 것으로 C₁₈-OH에 anthranilic acid 유도체가 치환된 것을 보여준다.¹⁷⁾ 이것은 lycoctonine 골격에 anthranilic acid moiety를 갖는 ajacine, anthranoyllycoctonine, methyllycaconitine과 비교함으로써 알 수 있다.¹¹⁾

MS spectrum은 *m/z* 202, 174, 146과 120에서 peak를 보여주며, 이는 anthranilic acid moiety에서 CH₃OH가 떨어져 나간 *m/z* 202, 계속해서 CO가 떨어져 나간 *m/z* 174, *m/z* 146으로 설명될 수 있으며 이같은 pattern은 septentriodine, septentrionine, puberaconitine, puberaconitidine에서 관찰되고 있다.

Lycoctonine과 aromatic ring의 탄소를 제외하고 남은 51.9(CH₃), 32.7(CH₂), 28.9(CH₂) ppm에 해당하는 3개의 탄소는 anthranilic acid moiety의 side chain에 붙어 있는 탄소로서 이들의 chemical shift는 이미 보고된 septentriodine과 잘 일치함을 알 수 있다.

이상의 결과로서 compound 2는 N-(3-methoxycarbonyl propionyl) anthranoyllycoctonine으로 동정했다. 이 화합물은 septentriodine (*Aconitum septentrionale*, *Aconitum barbatum* var. *puberulum*), chashmiradelphinine (*Delphinium cashmirianum*)¹⁹⁾으로 1979년 발표된 바 있다.

결 론

진범 (*Aconitum pseudolaeve* var. *erectum*)의 지하부로 부터 2개의 C₁₉-diterpene alkaloid를 분리했으며, 여러 spectral data로 부터 lycoctonine type인 lycoctonine(C₃₃H₄₅NO₁₁)과 septentriodine(C₃₇H₅₂N₂O₁₁)으로 동정했다.

<1988년 8월 1일 접수 : 8월 31일 수리>

문 헌

- 高木敬次郎, 木村正康等 “和漢藥物學” 南山堂, 東京, p.117, 1982.
- 難波恒雄, “原色和漢藥圖鑑”, 上卷, 保育社, 大阪, p.132, 1980.
- 陳存仁, “圖說 漢方醫藥大事典 <中國藥學大典> 第一卷, 講談社, 東京, p.120, 1982.
- 中國衛生部藥典委員會編, “中國藥典” p.446, 1978.
- 陸昌洙, 金成萬等 “漢藥의 藥理成分臨床應用” 癸丑文化社, 서울, p.494, 1982.
- 金在佶, “原色天然藥物大事典” 下卷, 南山堂, p.86, 1984.
- 赤松金芳, “新訂和漢藥” 醫齒藥出版, 東京, p.154, 1974.
- 盧昇鉉·李尙仁, 생약학회지, 14(4), 149 (1983).
- 李昌福, “大韓植物圖鑑”, 鄉文社, p.360, 1982.
- 鄭台鉉, “韓國植物圖鑑”, 新志社, p.136, 1956.
- Pelletier, S.W., Mody, N.V., Sowhney, R.S. and Bhattacharyya, J.: *Heterocycles*, 7(1), 327(1977).
- Pelletier, S.W., Mody, N.V., et Sawhney, R.S.: *Can. J. Chem.* 57, 1652 (1979).
- Pelletier, S.W. and Djarmati, Z.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 98, 2626 (1976).
- Yunusov, M.S., Rashkes, Y.V., Tel'nov, V.A. and Yunusov, S.Y.: *Khim. Prir. Soedin.* 5, 515 (1969).
- Sakai, S., Shinma, N., Hasegawa, S. and Okamoto, T.: *Yakugaku Zasshi*, 98 (10), 1376 (1978).
- Pelletier S.W. and Sawhney, R.S.: *Heterocycles*, 12(3), 377 (1979).
- Pelletier, S.W.: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 2, p.213, 1984.

18. Oe-quan, Y. and Das, B.C.: *Planta Medica*, **49**, 85 (1983).
19. Shamma, M. and Chinnasamy, P.: *J. Nat.Prod.* **42**, 615 (1979).
20. Pelletier, S.W., *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives* Vol. 2, p.211, (1984).
21. *Idem*,: *ibid.*, p.277 (1984).