

韓國產 附子類 生藥에 관한 연구(Ⅲ).

그늘돌쩌귀 (*Aconitum uchiyamai*)의 diterpene alkaloid에 대하여

鄭 普 燮 · 李 炯 圭 · 李 炫 宣

서울대학교 약학대학

Studies on Korean *Aconitum* Species (Ⅲ). Alkaloids of *Aconitum uchiyamai*

Bo Sup Chung · Hyeong Kyu Lee and Hyun Sun Lee

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

Abstract—A diterpene alkaloid and a disaccharide were isolated from the root of *Aconitum uchiyamai*, and identified as mesaconitine and sucrose respectively by UV, IR, MS, and NMR data

Keywords—*Aconitum uchiyamai* Ranunculaceae · diterpene alkaloid · mesaconitine disaccharide · sucrose

그늘돌쩌귀 (*Aconitum uchiyamai* Nakai)는 지리산, 금강산 및 북부지방에 자라는 다년초로서 높이가 1m에 달하며 전체에 털이 없다. 잎은 3개로 갈라지며 傾覆片은 다시 2개로 갈라진다. 꽃은 자주빛이 도는 연한 하늘색으로 8월에 피며 자방은 5개로 털이 없다. 뿌리를 약용으로 한다.¹⁾

그늘돌쩌귀는 有毒한 식물로서 이에 대한 연구가 거의 되어있지 않으며 새로운 자원생약의 개발과 천연물 연구의 목적으로 본 연구를 시행하였다.

실험방법

1. 재 료

1987년 9월 지리산에서 지하부를 채집하여 음건한 시료를 실험에 사용하였다.

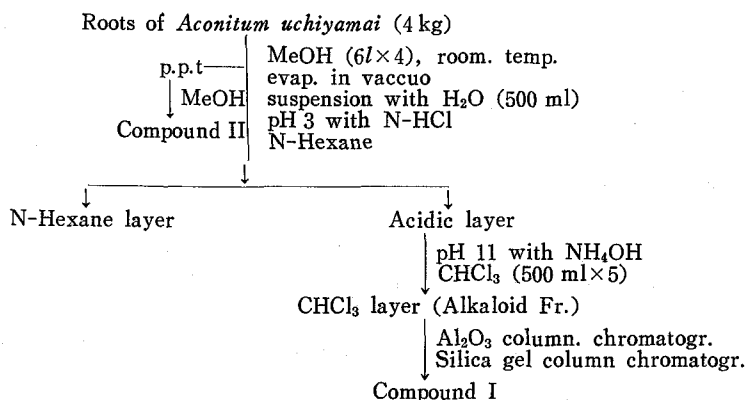
2. 시약 및 기기

Column chromatography用 silica gel은 silica gel 60 (70~230 mesh, ASTM, Art. 7734, Merk.)을 사용하였고, Alumina는 Aluminum

oxide 90 active (neutral, active grade I, 70~230 mesh, ASTM, Art, 1077, Merk)을 사용했다. Thinlayer chromatography用 plate로는 pre-coated silica gel 60 F₂₅₄ plate (thick: 0.25 mm, (Art 5715, Merk)와 aluminum oxide F₂₅₄ (neutral type E, thick: 0.2 mm, Art. 5550, Merk)를 사용했다. 발색은 UV lamp, Dragendorff 시약 및 anisaldehyde-H₂SO₄ 시약을 사용했다. 용매는 식물재료를 추출할 때만 공업용을 증류하여 사용하였고 기타 시약은 1급시약을 사용했다. Mp는 Gallenkamp melting point apparatus (uncorrected), IR은 Breckmann IR-20A spectrophotometer, NMR은 Varian model FT 80A Spectrometer, MS는 Hewlett packard model HP 5985 B GC/MS system을 사용했다.

3. 추출 및 분리

그늘돌쩌귀의 지하부 4 kg을 조말로 한 후 Me OH 6 l씩 4회(1회 48시간) 냉침하여 추출하였다. 추출액을 45° 이하에서 200 ml까지 농축하고 500 ml의 증류수를 가하여 현탁시킨 후 Scheme 1에 따라 alkaloid 분획인 CHCl₃ 분획 50 g을 얻었



Scheme I. Fractionation and separation of compound I, II from the roots of *Aconitum uchiyamai*

Table I. Carbon-13-chemical shifts and assignments for compound I

Carbon	Compound I	Mesaconitine ⁽¹⁰⁾	Hypaconitine ⁽¹²⁾	Delphinine ⁽¹⁰⁾
1	83.2 (CH)*	83.2	85.0	84.9
2	35.8 (CH ₂)	35.9	26.4	26.3
3	70.9 (CH)	70.8	34.9	34.7
4	43.5 (C)	43.5	39.3	39.3
5	46.5 (CH)	46.5	48.2	48.8
6	82.4 (CH)	82.4	83.1	83.0
7	44.3 (CH)	43.3	44.5	48.2
8	91.8 (CH)	91.8	91.9	85.4
9	43.7 (CH)	43.8	43.8	45.1
10	40.8 (CH)	40.9	41.1	41.0
11	49.9 (C)	50.0	49.9	50.2
12	34.1 (CH ₂)	34.2	36.3	35.7
13	74.0 (C)	74.1	74.1	74.8
14	78.8 (CH)	78.9	78.8	78.9
15	78.8 (CH)	78.9	78.8	39.3
16	90.0 (CH)	90.0	90.0	83.7
17	62.1 (CH)	62.2	62.1	63.3
18	76.0 (CH ₂)	75.8	80.2	80.2
19	49.4 (CH ₂)	49.4	56.0	56.1
N-CH ₃	42.3	42.4	42.6	43.3
1'-OCH ₃	56.2	56.2	56.5	56.1
6'-OCH ₃	57.9	57.9	57.8	57.6
16'-OCH ₃	61.0	61.0	60.8	58.6
18'-OCH ₃	59.0	59.0	58.9	58.9
CO	166.0	166.0	166.1	166.0
Ar	a	129.8 (C)	129.9	129.6
	b	129.6 (CH)	129.6	128.4
	c	128.6 (CH)	128.6	130.4
	d	133.2 (CH)	133.2	132.8
CO				
CH ₃	172.3	172.3	172.3	169.3
	21.3	21.4	21.4	21.4

* Each carbon was assigned by ¹³C-NMR APT spectrum.

다. alkaloid 분획 50 g을 alumina column chromatography를 실시하였다. 용매는 N-hexane 500 ml를 시작으로 N-hexane-acetone (30 : 1 → 2 : 1)으로 용출시켜 Fr. 1, Fr. 2, Fr. 3, Fr. 4를 얻었다. Fr. 2를 CHCl_3 - NH_4OH (10 : 1, lower phase)를 용매로 Silica gel chromatography를 실시하여 compound I (10 g)을 얻었다. 또한 냉침추출액의 농축과정시 생성된 침전물을 MeOH를 정제하여 compound II (90 g)을 얻었다.

실험 결과

1. Compound I의 物理化學的 性質

Compound I은 무색의 정방형결정(N-hexane- CHCl_3), mp. 207~209°로 dragendorff 시약에 양성을 나타낸다.

원소분석 : $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{O}_{11}\text{N}$; 실측치 : C, 62.9, H, 7.15, N, 2.30, 이론치 : C, 62.76, H, 7.4, N, 2.22; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm : 229, 272; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3550 (OH), 1730, 1720(ester C=O), 1280, 1100; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 80 MHz) δ : 1.38(3H, s, $-\text{OCOCH}_3$) 2.34 (3H, s, N- CH_3), 3.17, 3.28, 3.29, 3.74 (each 3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.8 (1H, d, $J=4.5$ Hz) 7.50 (3H, m, ArH), 8.04 (2H, dd, $J=8.2$ Hz); MS, m/z (rel. int.) : 631 (M^+ , 0.4), 600 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$, 26), 571 ($\text{M}^+ - \text{AcOH}$, 9), 572, 540 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3 - \text{AcOH}$, 100), 522, 105 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 20 MHz) : Table 1.

2. Compound II의 物理化學的 性質

MeOH 냉침추출액을 농축하여 방치시 생성된 침전물을 methanol로 정제하여 compound II (90 g)를 얻었다.

무색의 결정으로 Seliwanoff 시약에 의해 적색으로 정색되었다.

Mp : 168~184°; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400, 1140, 1060; $^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 80 MHz) δ : 5.36 (d, $J=3.2$ Hz) 3.4~4.3 (m); $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 20 MHz) : 62.6 (fru-1), 92.4 (glc-1'), 103.9 (fru-2), 72.6 (glc-2'), 81.6 (fru-3), 72.9 (glc-3') 77.0 (fru-4), 69.6 (glc-4'), 74.4 (fru-5), 71.3 (glc-5'), 61.9 (fru-6), 60.6

(glc-6').

고 찰

1. Compound I

MS와 원소분석으로 이 화합물은 분자량 631, $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{O}_{11}\text{N}$ 의 분자식을 갖는 것을 알 수 있다. IR Spectrum은 $-\text{OCOCH}_3$ (1730 cm^{-1}), $-\text{OC-Oph}$ (1720 cm^{-1})의 존재를 보여주며 UV spectrum에서 benzoyl ester의 흡수를 볼 수 있다. Proton spectrum은 1개의 acetyl group (3H, s, 1.38), N-methyl (3H, s, 2.34), 4개의 aliphatic methoxyl group (3H, s, 3.17, 3.28, 3.29, 3.74) 5개의 aromatic proton (3H, m, 7.50, 2H, dd, 8.04, $J=8.2$ Hz)이 나타남을 보여준다. MS spectrum은 aconitine type의 특징적인 fragmentation pattern을 보여준다.²⁾ 분자 ion peak는 아주 약하게 나타났으며, m/z 600에서 탄소 1번의 OCH_3 가 떨어져 나간 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$)가 강하게 나타나며 m/z 572 ($\text{M}^+ - \text{OAc}$), 571 ($\text{M}^+ - \text{HOAc}$), 540 ($\text{M}^+ - \text{OCH}_3 - \text{HOAc}$)의 peak들은 C-8-OAc의 존재를 제시해준다.³⁾

또한 $^{13}\text{C-NMR}$ 상에서 탄소수가 33개로 N- CH_3 , $4 \times \text{OCH}_3$, benzoyl, acetate의 탄소를 제외하면 골격탄소가 19개로 이 화합물은 aconitine type의 diterpene alkaloid임을 알 수 있다.

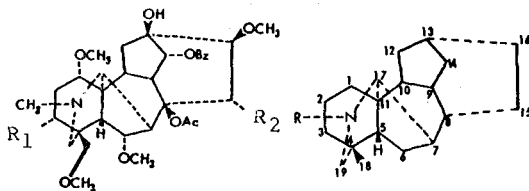
천연에 나타난 C_{19} -diterpene alkaloid는 모두 16번 탄소에 $\beta\text{-OCH}_3$ 를 지니고 있으며, 16번 탄소의 경우 13번 위치에 OH가 존재할 때 (delphinine¹⁴⁾ : 83.7 ppm) 보다는 15번 위치에 OH가 도입될 때 더 큰 영향(down field shift)을 받으며 특히 $\beta\text{-OH}$ 일 때 (crassicaulisine⁴⁾ : 83.9 ppm) 보다는 15- $\alpha\text{-OH}$ 일 때 (senbusine C^{51}) : 90.5 ppm)가 downfield shift하게 된다. 따라서 이 화합물의 90.0 ppm은 16번 탄소가 되며 15번 탄소에 $\alpha\text{-OH}$ 가 존재함을 알았다.

Acetate와 benzoyl기의 위치를 살펴보면 C-8-OAc와 C-14-OBz 또는 C-14-OAs를 갖는 경우 acetate methyl group의 3H singlet는 δ 1.34~1.46에서 나타난다. 그 예로서 8-acetyl-14-benzoylneoline,⁶⁾ isodelphinine⁷⁾을 들 수 있다. 그러나 역으로 C-8-OBz 또는 C-8-anisoyl과 C-

14-OAc인 경우 δ 1.76~1.78에서 나타난다(예 : ezochasmaconitine⁸⁾) compound I의 경우 δ 1.38에서 3H singlet를 보여주며 이는 C-8-OAc C-14-OBz을 갖는 것을 알 수 있다. A-ring의 경우 탄소 1번과 3번의 위치에서만 산화가 일어나며 1번 탄소에 결합된 oxygen의 형태는 α -OH (C_1 : 72~73 ppm) 또는 α -OCH₃ (C_1 : 83~84 ppm)인 경우가 대부분이며, β -OCH₃인 경우 (puberanine¹¹⁾: 81.4 ppm), β -OH인 경우 (delpirine¹⁰⁾: 69.0)와 비교해 볼 때 C-1- α -OCH₃임을 알 수 있다. 또 3번 탄소의 경우 OH가 도입됨으로써 2, 3, 4, 19번 탄소에 영향을 미치게 되며 hyaconitine과 비교시 3번 탄소는 α -effect에 의해서 36 ppm (34.9 ppm에서 70.9 ppm으로), 2번 탄소는 β -effect에 의해 9.4 ppm (26.4 ppm에서 35.8 ppm으로) 만큼 저자장쪽으로 이동했으며 19번 탄소는 γ -effect에 의해서 6.6 ppm (56.0 ppm에서 49.4 ppm으로) 고자장으로 나타나는 것을 보아 C₃- α -OH를 갖는 것을 알 수 있다(Table 1).

δ 4.8에서 1H가 doublet ($J=4.5$ Hz)로 나타나는 것은 C-13-OH의 존재를 암시해주며 C-18-OCH₃는 3번 위치에 OH가 존재함으로써 C₁₈의 chemical shift가 hyaconitine에 비해 deshielding 되어 76.0 ppm에 나타나는 것으로 생각된다.

이상과 같은 결과로 compound I은 mesaconitine으로 동정했으며, 이들의 ¹³C-NMR, data 및 여러 spectral data가 기보고된 mesaconitine과 잘 일치하였다.



numbering system

mesaconitine R₁=OH, R₂=OH

hyaconitine R₁=H, R₂=OH

delpirine R₁=H, R₂=H

2. Compound II

감미가 강하고 selivanoff 시약에 양성으로 IR, ¹H-NMR에서 이 화합물이 sugar 것을 알 수 있었다. δ 5.36에서 doublet ($J=3.2$ Hz)는 α -form

의 glycosidic anomeric proton을 보여주며, 특히 ¹³C-NMR를 비롯하여 여러 spectral data가 sucrose와 잘 일치하여 compound II는 sucrose (β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside)로 동정했다.

결 론

그늘돌쩌귀 (*Aconitum uchiyamai* Nakai)의 지하부의 MeOH 냉침액으로 부터 compound I과 II를 분리하였으며, 여러 spectral data로 부터 각각 mesaconitine (mp. 207~209°, C₃₃H₄₅NO₁₁)과 sucrose로 동정했다.

(1988년 7월 10일 접수 : 8월 31일 수리)

문 헌

1. 李昌福 : 大韓植物圖鑑, p.364 郷文社(1980).
2. Yunusov, M.S., Rashkes, Y. V., Tel'nov, V. A., and Yunusov, S.Y.: *Khim. Prirod. Soedin.* 515 (1969).
3. Yunusov, M.S., Rashkes, Y. V., and Yunusov, S.Y.: *Khim. Prirod. Soedin.* 85 (1972).
4. Wang, F.P. and Fang, Q.C.: *Planta Medica* 47, 39 (1983).
5. Konno, C., Shirakawa, M. and Hikino, H.: *J. Nat. Prod.* 45, 128 (1982).
6. Pelletier, S.W., Bhattacharyya, J. and Mody, N.V., *Heterocycles*, 6, 463 (1977).
7. Pelletier, S.W., Mody, N.V. and Katsui, N., *Tetrahedron Lett.*, 4027 (1977).
8. Takayama, H., Kokita, A., Ito, M., Kurosaki F. and Okamoto, T., *Yakugaku Zasshi* 102(3), 245 (1982).
9. Pelletier, S.W.: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives Vol. 2* 3209-21(1985).
10. Pelletier, S.W. and Djarmati, Z., *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 2626 (1976).
11. Yu, D. and Das, B.C.: *Planta Medica* 49, 85 (1983).
12. Pelletier, S.W., *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives Vol. 2*, 393 (1985).
13. Breitmaier, E. and Voelter W.: ¹³C-NMR Spectroscopy, Verlag Chemie, p.239 (1974).