

한국產 靑木香의 成分에 관한 연구(I).

Aristolochic Acid에 대하여

韓大錫 · 鄭普燮 · 池亨浚* · 李欽淑

서울대학교 약학대학 · *서울대학교 생약연구소

Studies on the Constituents of *Aristolochia contorta* Root(I)

On Aristolochic Acid Derivatives

Dae Suk Han, Bo Sup Chung, Hyung Joon Chi* and Heum Sook Lee

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

*Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—Two phenanthrene nitrocarboxylic acid derivatives were isolated from the root of *Aristolochia contorta* Bunge. They were identified as aristolochic acid I and aristolochic acid II, respectively.

Keywords—Aristolochiaceae · *Aristolochia contorta* · aristolochic acid

*Aristolochia contorta*는 우리나라의 산야 또는 숲가장자리에서 자라는 쥐방울덩굴과(Aristolochiaceae)에 속하는 多年生 덩굴식물로서, 식물전체를 利尿, 通經 및 解毒劑로, 열매는 鎮靜 및 去痰劑로 사용하고 있다.¹⁾ 韓方에서는 *Aristolochia debilis* Sieb et Zucc.와 *Aristolochia contorta* Bunge를 주로 사용하는데, 식물의 부위에 따라서 성숙한 과실은 馬兜鈴이라고 부르며, 去痰作用, 抗茵作用, 血壓降下 등의 작용이 전해지고^{2,3)}, 뿌리는 靑木香이라 하여 血壓降下 작용, 腹痛, 胃痛의 치료⁴⁾ 및 毒蛇咬傷의 치료에 쓰이고 있다. 또한, 그 줄기는 天仙藤이라하며 妊娠水腫, 胃痛의 치료에 쓰이고 있다.³⁾

*Aristolochia*속 식물의 성분에 관한 연구로서는 많은 식물들이 주성분으로 phenanthrene nitrocarboxylic acid 유도체를 비롯하여,⁵⁾ phenanthrene lactam 유도체⁶⁾, aporphine alkaloids,⁷⁾ bisbenzylisoquinolines⁸⁾ 등이 報告되었다. 또한, 정유성분으로 많은 terpenoid 성분과⁹⁾ lignan 성분도¹⁰⁾ 研究報告되어 있다.

우리나라에서는 목본으로는 *Aristolochia manshuriensis* Kom.와 초본으로는 *Aristolochia contorta* Bunge의 두종만이 자생하고 있을 뿐인데, 목본인 *Aristolochia manshuriensis*의 성분에 관해서는 Chung과 Rücker 등에 의하여 aristolochic acid I, II와 aristolone 등이, 최근에 (+)-isobicyclgermacrenal이 분리, 보고되었고^{11,12)},草本인 *Aristolochia contorta*에서는 allantoin, magnoflorine, aristolochic acid A, aristolochic acid E가 분리되었다는 보고가 있을 뿐 그 성분과 작용에 관한 現代藥學的인 研究報告가 거의 없음에 착안하여, 著者는 國產生藥資源開發 및 신약창출의 차원에서 그 生理活性成分을 규명코자 *Aristolochia contorta*의 지하부에 대한 성분 규명에 관한 연구를 시도하였다.

實 驗 方 法

植物材料

靑木香(쥐방울풀)은 경기도와 강원도 일대에

서 1986년 가을에 채집하여 陰乾한 후 粗末로 하여 實驗材料로 하였다.

試藥 및 機器

Column chromatography用 silicagel은 Kieselgel 60(230~400mesh ASTM Merck Art, 9385)와 Kieselgel 60(70~230 mesh ASTM Merck Art, 7734)를 사용하였고, Thin layer chromatography用 precoated plates는 Kieselgel 60F 254 (Merck Art, 5715)를 사용하였다. 용접은 Mitamura Riken Heat Block Model-MRK(Uncorrect)로 측정하였고, UV는 LKB(Biochrom) Ultraspec 4050 spectrophotometer로, IR은 Beckmann IR-20A spectrophotometer, NMR은 Brucker WP 80 SY NMR spectrometer와 Brucker AM 200 NMR spectrometer로 측정하였다.

抽出 및 分離

A. *contorta* 뿌리의 조말 약 7.0 kg을 메탄올 14 l씩 사용하여 reflux 下에서 열탕 추출하고 그 추출액을 감압 농축하여 MeOH Ext.을 얻고 hexane으로 수회 추출하여 hexane fraction을 만든 후, 나머지 수층에서 CHCl_3 로 수회 추출하여 CHCl_3 fraction을 얻고, Scheme 1과 같이 처리하여 각 compound를 얻었다.

實 驗 結 果

Compound I의 이화학적 성질

Scheme 1의 Fr. 4에서 얻은 compound I은 DMF+MeOH 용액에서 등황색 침상결정을 이루었다.

Mp: 270°(decomp.); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1695(COOH C=O), 1600(aromatic C=C), 1530, 1355 (NO_2); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 238, 279, 314, 386; MS, m/z (rel. int. %): 341 [M^+ , 42.7], 295 [(M- NO_2)⁺, 100]; ¹H-NMR(200 MHz, DMSO) δ : 4.05(3H, s, -OMe), 6.49(2H, s, methylenedioxy), 7.82(1H, t, $J=8.0$ Hz, H-6), 8.56(1H, s, H-9), 8.60(1H, br.d, $J=8.0$ Hz, H-5), 7.81(1H, s, H-2), 7.34(1H, br.d, $J=8.0$ Hz, H-7), 13.35 (br.s, -COOH) ¹³C-NMR (50 MHz, DMSO): Table I.

Compound I의 methylation

Comp. I 약 20 mg을 K_2CO_3 와 methyl iodide를 사용하여 그의 methylester(I-m)을 합성하였다.

MS m/z (rel. int. %): 355 [M^+ , 81.4], 309 [(M- NO_2)⁺, 77.5], 294 [309- CH_3 , 67.6], 279 [309-OMe, 100], 266(32.0), 251(33.5); ¹H-NMR(80 MHz, DMSO) δ : 3.65(3H, s, -COOMe) 4.05(3H, s, -OMe), 6.36 (2H, s, methylenedioxy), 7.24 (1H, d, $J=8$ Hz, H-7), 7.67(1H, s, H-2), 7.85 (1H, t, $J=8$ Hz, H-6), 8.50 (1H, s, H-9), 8.70 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5).

Compound II의 이화학적 성질

Mp: 270° decomp.; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1700, 1530, 1360; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 250, 298, 355; MS m/z (rel. int. %): 311 [M^+ , 30.8], 265 [(M- NO_2)⁺, 100]; ¹H-NMR(200MHz, DMSO) δ : 6.50 (2H s, methylenedioxy), 7.82(1H, s, H-2), 7.76-7.95(2H, m, H-6, 7), 8.25(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-8), 8.59(1H, s, H-9), 9.05(1H, d, $J=8$ Hz, H-5), 13.36(br. s, -COOH); ¹³C-NMR(50 MHz, DMSO): Table I.

Compound II의 methylation

Compound I과 같은 방법으로 compound II의 methylester (II-m)을 합성하였다.

MS m/z (rel. int. %): 325 [M^+ , (10.7)], 279 [(M- NO_2)⁺, 48.7], 264 [M^+ - NO_2 -Me, 100.0], 237(17.8); ¹H-NMR (80 MHz, DMSO) δ : 3.62 (4H, s, COOMe), 6.38 (2H, s, methylenedioxy), 7.65(1H, s, H-2), 7.75~7.88 (2H, m, H-6, 7), 8.07~8.18(1H, m, H-8), 8.32(1H, s, H-9), 9.08(1H, br.d, H-5).

考 察

Compound I과 II는 모두 alkali에 잘 용해하는 산성물질이었으며 10% 황산으로 발색시켰을 때 황색-녹색으로 발색되었고, 전개용매를 산성으로 해 주면 Rf值가 서로 바뀌는 것으로 보아¹³⁾ 액성의 영향을 많이 받는 물질임을 알 수 있었다. IR spectra에서 1,700 cm^{-1} 근처에서 모

Table I. Carbon-13 NMR data of compound I, compound II and related phenanthrene derivatives

Carbon No.	compound I	compound II	phenanthrene	bulbophyllanthrin	moscatin
1	124.25(C)	124.28	128.3	106.00	108.20
2	112.16(CH)	111.87	126.3	146.90	154.96 ^a
3	145.64(C) ^a	145.86 ^a	126.3	138.90	102.56
4	145.98(C) ^a	145.98 ^a	122.2	140.71	156.18
4a	116.65(C) ^b	116.58 ^b	131.9	117.11	115.18
5	118.81(CH)	126.42	122.2	154.24	154.60 ^a
5a	131.57(C)	130.46 ^c	131.9	117.69	119.45
6	129.84(CH)	128.74 ^d	126.3	115.74	117.53
7	108.89(CH)	128.62 ^d	126.3	127.43	130.19
8	156.31(C)	128.56(CH) ^d	128.3	120.32	121.41
8a	118.4(C)	130.30 ^c	130.1	134.53	134.89
9	119.44(CH)	125.80	126.6	126.85	127.79
10	146.12(C) ^a	146.12 ^a	126.6	126.14	126.52
10a	117.20(C) ^b	117.20 ^b	130.1	127.34	136.85
-OCH ₃	56.17	—	—	56.27	59.19
	—	—	—	62.28	
-OCH ₂ O-	102.86	102.98	—	—	
--COOH	167.66	167.69	—	—	—

Solvent: DMSO-d₆ (50 MHz)

a, b, c, d: Assignments may be reversed.

두 강한 conjugated carbonyl의 흡수를 볼 수 있었으며 1,350 cm⁻¹과 1,530 cm⁻¹에서 nitro기에 의한 unsymmetrical stretching absorption¹⁴⁾의 특징을 찾을 수 있었다.

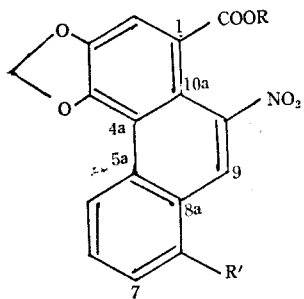
MS spectra에서도 compound I 과 II 모두 [M⁺-NO₂]에서 base peak를 보였으며¹⁵⁾, 각각의 methylester에서도 모두 [M⁺-NO₂], [M⁺-NO₂-CH₃]의 fragment ion을 보여 aristolochic acid 유도체임을 알 수 있었다.

Compound I의 ¹H-NMR에서 δ 8.56과 δ 7.81의 singlet이 2개, C-5 위치의 sterically crowded proton은¹⁶⁾ 가장 저자장에 δ 8.60, J=8 Hz의 doublet으로, δ 7.82의 triplet은 J=8 Hz이므로 1개의 methoxyl은 C-8에 존재하며 이 화합물은 aristolochic acid I임을 알 수 있다.

Compound II의 ¹H-NMR에서는 δ 8.59와 δ 7.82 2개의 singlet을 제외한 나머지 4개의 proton이 δ 7.76~δ 7.95에서 2개가 multiplet으로, δ 8.25와 δ 9.05에서는 각각 doublet으로 나타나 C-5, 6, 7, 8이 모두 치환되지 않은 aristolochic

acid II임을 알 수 있었다. 또한, compound I 및 II의 methylester의 ¹H-NMR에서도 각각 δ 3.65, δ 3.62에서 carbomethoxyl의 peak가 생기며 δ 13.35, δ 13.36에서의 broad singlet이 소실되며 methylenedioxy의 proton이 0.15 ppm 정도 고자장 shift하는 사실 등이 문헌의 data¹⁷⁾와 잘 일치하였다.

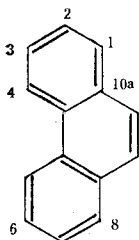
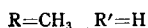
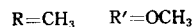
Aristolochic acid 유도체는 지금까지 ¹³C-NMR data가 없으므로 APT spectra를 이용하여 그 data를 정립하였다. 각 carbon은 phenanthrene의 기본골격의 chemical shift¹⁸⁾에 compound I 과 compound II의 C₈-OMe의 차이를 이용한 additive rule¹⁹⁾을 적용시켜 이론치를 산출하여 보고 phenanthrene 유도체에서 발표된 moscatin 과 bulbophyllanthrin의 data²⁰⁾를 참조하였다. Compound I의 경우 C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₇, C₈, C₁₀, C_{4a}, C_{8a}는 functional group에 의해 비교적 큰 영향권에 있으므로 구분할 수 있었고 C_{5a}와 C₆은 compound II와 비교하여 C₈의 methoxyl의 meta effect를 감안하여 정하였다. Compound



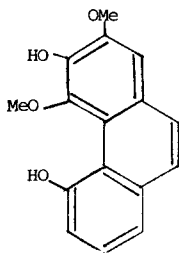
Compound I



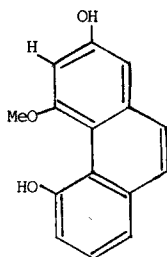
Compound II



phenanthrene



bulbophyllanthrin



moscatin

II의 경우 C₅, C₆, C₇, C₈은 1, 2 위치만이 (compound I과 II의 C₃과 C₄) oxygen function을 갖는 aporphine의 ring D의 CH carbon의 chemical shift²²⁾와 (dehydronuciferine의 예 : C₁₀, C₉, C₈-C₁₁=3.8~5.1 ppm), 1, 2-dimethoxy-5-methylindeno[1,2-b]indol-4-one²³⁾에서 ring D의 4개의 CH carbon이 125.8, 127.4, 127.5, 128.9로 발표된 data를 참조하여 C₅를 126.42로 하였고, 128.56, 128.62, 128.74는 구분하지 못하고 C₆, C₇, C₈로 정하였다. 또한, 이러한 현상은 aristolactam analogue에서도 확인되었다.²⁴⁾

Table I의 결과에서 compound I은 C₉의 -OMe 영향으로 C₈ 자체와 *ortho* 위치에 해당하는 C₇, C_{8a}의 carbon이 compound II에 비해 +27.7, -19.7, -12 ppm 이동하였고 *para* 위

치에 해당하는 C₅가 -7.6 ppm 이동하였다. C₉의 chemical shift의 큰 차이는 (6.5 ppm upfielded from compound II) compound I은 C₈의 methoxyl이 aryl-oxygen간의 torsion이 생기게 하여²¹⁾ ring position의 electron density를 감소시키고 주변의 ring current 특성으로 C₉에 영향을 미치는 *peri* effect를 보이는 것으로 해석된다. 위의 두가지, additivity와 *peri* effect는 aristolactam analogue와 그의 glycoside의 chemical shift 차이에서도 잘 부합되고 있다.²⁴⁾

結 論

한국산 청목향의 (*Aristolochia contorta* Bunge) CHCl₃ Ext.로부터 얻은 acidic Fr.에서 aristolochic acid I (C₁₇H₁₁O₇N, mp 270° decomp.) 과 aristolochic acid II (C₁₆H₉O₆N, mp 270° decomp.)를 분리하여 spectral data와 이화학적 방법으로 동정하고 그 ¹³C-NMR data를 해독하였다.

<1988년 12월 30일 접수 : 1989년 3월 22일 수리>

文 獻

1. 李昌福 : 大韓植物圖鑑, 郷文社, p.296 (1982).
2. 漢方醫學大辭典 II, 講談社, p.324 (1982).
3. 中藥大辭典 V, 小學館, p.2156 (1985).
4. Pery, L.M.: Medicinal Plants of East and Southeast Asia, MIT Press, p.46 (1980).
5. Achari, B., Bandyopadhyay, S. and Pakrashi, C. *Heterocycles* 20(5), 771(1983).
6. Mix, D.B., Guinaudeau, H. and Shamma, M.: *J. Nat. Prod.* 45, 657(1982).
7. Ito, K., Frukawa, H., Haruna, M. and Sato, M.: *Yakugaku Zasshi* 90, 1163 (1970).
8. Govindachari, T.R. and Viswanathan, N.: *Ind. J. Chem.* 5, 655 (1967).
9. Habib, A.A. and El-Sebakhy, N.A.: *Pharmazie* 36, 291 (1981).
10. Rücker, G. and Langman, B.: *Tetrahedron Lett.* 5, 457 (1978).
11. Rücker, G. and Chung, B.S.: *Planta Medica* 27, 68 (1975).

12. Chung, B.S.: *Kor. J. Pharmacognosy* 5, 167 (1974).
13. Schunack, W., Mutschler, E. and Rokelmeyer, H.: *Pharmazie* 22, 118 (1967).
14. Nakanish, K. and Solomon, P.H.: *Infrared Absorption Spectroscopy*, Holden-Day Inc., p.50 (1977).
15. Eckhardt, G., Urzua, A. and Cassels, B.K.: *J. Nat. Prod.* 46(1), 92(1983).
16. Tomita, M., Shingu, T., Fujitami, K. and Frukawa, H.: *Chem. Pharm. Bull.*, 921 (1965).
17. Nakanishi, T., Iwasaki, K., Nasu, M., Mura, I. and Yoneda, K.: *Phytochemistry* 21, 1759 (1982).
18. Alger, D., Grant, D.N. and Paul, E.G.: *J. Am. Chem. Soc.* 88, 5397 (1966).
19. Wehrli, F.W. and Wirthlin, T.: *Interpretation of C-13 NMR Spectroscopy*, Heyden and Son Ltd., p.47 (1976).
20. Majumder, P.L. and Sen, R.C.: *Ind. J. Chem.* 26(B), 18 (1987).
21. Cassels, B.K., Cave, A. and Leboeuf, M.: *J. Nat. Prod.* 50, 297 (1987).
22. Guinaudeau, H., Leboeuf, M. and Cave A.: *J. Nat. Prod.* 46, 761(1983).
23. Kunitomo, J., Murakami, Y. and Akasu, M.: *Yakugaku Zasshi* 100, 337 (1980).
24. Lee, H.S.: 약학박사학위논문 p.62 (1988).