

## 지리바꽃 괴경의 알카로이드

이무택 · 성환길\* · 황완균 · 김일혁<sup>‡</sup>

중앙대학교 약학대학, \*경남생약연구소

(Received March 4, 1997)

### Alkaloids from the Tuber of *Aconitum chiisanense*

Moo Taek Lee, Hwan Kil Sung\*, Wan Kyunn Whang and Il Hyuk Kim<sup>‡</sup>

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

\*Kyung-Nam Institute for Crude Drugs

**Abstract**—Tuber of *Aconitum chiisanense*(Ranunculaceae) a specific medicinal plant in Korea, which is known to have the activity to recover reduced metabolism of feeble patients and has been used to symptoms such as pain, paralysis, atonia and coldness of extremities, etc. were studied. The powdered tubers of the plant were extracted with 10% EtOH 3 times and the combined extract was dissolved in 1N HCl solution and washed with ethyl acetate. The aqueous layer was basified with solid Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and extracted with CHCl<sub>3</sub> to obtain an alkaloidal fraction. The alkaloidal fraction was subjected to column chromatography using silica gel, alumina and Sephadex LH 20, etc. From the alkaloidal fraction, five diterpene alkaloids, mesaconitine, aconitine, hypaconitine, 8-O-ethyl 14-benzoylmesaconine and talatizamine, were isolated and identified on the basis of their physico-chemical properties and spectroscopic evidences (<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR, EI-MS, IR, 2D-NMR) respectively. Especially the Compound IV, 8-O-ethyl 14-benzoylmesaconine, was assumed to be an artifact resulting from mesaconitine during extraction procedures. The contents of mesaconitine, aconitine and hypaconitine in the mother tuber of this plant were 0.300%, 0.024%, and 0.068%. And that of the attached tuber(new one) of this plant were 0.336%, 0.034% and 0.240% respectively.

**Keywords** □ *Aconitum chiisanense*, Ranunculaceae, tuber, mesaconitine, aconitine, hypaconitine, 8-O-ethyl 14-benzoylmesaconine, talatizamine.

우리나라 특산 약품식물의 하나인 지리바꽃 *Aconitum chiisanense*(미나리아재비과, Ranunculaceae)은 지리산 및 중부 이북의 산지에서 자라는 다년초로서 원줄기는 높이가 1m에 달하고 곧추 자라며, 뿌리는 마늘썩처럼 굵고 육질이다. 잎은 호생하며 3-5개로 갈라지고 엽병이 있으며 열편은 긴 타원형으로서 다시 우상으로 갈라지고 최종 열편은 난상 피침형이며 끝이 뾰족하고 털이 없다. 꽃은 7-9월에 피며 자주색이고 가지끝과 원줄기 끝에 총상으로 달리며 화경에 털이 있고 포는 선형이다. 꽃받침 잎은 5개이며 뒤쪽의 꽃받침잎이 고깔처럼 위에서 내려앉고 길이 2cm 정도로서 이마 끝이

뾰족하게 앞으로 나오며 양쪽 2개는 긴 대가 있어 고깔같은 꽃받침잎 속으로 들어가고 수술은 여러개이며 수술대는 밑부분이 퍼진다. 자방은 5개가 서로 떨어져 있고 열매는 골돌로서 끝에 암술대가 길게 남아있다. 그늘 돌쩌귀에 비해 열편이 가늘고 작으며 화경에 다소 털이 많다.<sup>1-5)</sup>

생약에서 이 식물의 괴경을 중국산 부자 *Aconitum carmichaeli*를 비롯하여 동속식물의 괴경과 함께 부자(附子, Aconiti Tuber)의 기원식물로 하고 있으며 한국에서 초오(草烏), 중국에서 부자(附子) 그리고 일본에서 오두(烏頭)라고 한다. 부자는 신농본초경의 하품에 수재되어있으며 부자(附子), 천오(川烏), 오두(烏頭), 측자(側子), 천웅(天雄) 등으로도 부른다.<sup>6)</sup> 예로부터 부자는 진통, 강심, 이뇨, 흥분, 해열, 진정, 신진대사

<sup>‡</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-820-5595 (팩스) 02-816-7338

및 기능향진 등의 목적으로 쓰여온 중요한 생약이다.

그러나 과량 사용시 중추신경마비, 말초신경마비, 호흡중추마비, 시력장애, 소화기자극 등의 독성유발로 치사에 이르는 경우가 있어 수치하여 사용하고 있다.

일반적으로 수치부자(修治附子)로는 고즙과 소금물에 담그었다가 말린 염부자(鹽附子), 껍질을 벗기고 세로로 쪼개서 열탕에 담그었다가 건조한 명부괴(明附塊), 부자의 껍질을 벗기고 박편으로 썰어 열탕에 담그었다가 건조한 담부편, 세로로 돌로 쪼개어 굵거나 찢포부자(擘附子) 등이 있다. 부자는 빨리 상하여 그냥 건조하기가 어렵기 때문에 염부자, 명부괴, 담부편등으로 수치하여 건조, 저장한 후 이들을 약으로 쓰기 위해서는 다시 쪼개자로 수치하여 독성을 약화시킨 후 사용하기도 한다.<sup>7)</sup>

1965년 Chen 등은 *Aconitum carmichaeli*로부터 aconitine, hypaconitine, mesaconitine 등의 주성분을 분리 보고 하였고<sup>8)</sup>, 1966년 Iwasa 등은 *Aconitum carmichaeli*로부터 hypaconitine, aconitine, mesaconitine 및 carmichaeline을<sup>9)</sup>, 1981년 Takayama 등은 *Aconitum* 속으로부터 15- $\alpha$ -hydroxyneoline 및 15- $\beta$ -hydroxyneoline을 분리 보고하였다.<sup>10)</sup> 1982년 Kitagawa 등은 중국산 *Aconiti Tuber*로부터 lipo-alkaloids를<sup>11)</sup>, Konno 등은 *Aconitum carmichaeli*로부터 isotalatizidine, karacoline, monoacetylaltatizamine, senbusine A, senbusine B, senbusine C 등을<sup>12)</sup>, Pelletier 등은 aconitine, hypaconitine, mesaconitine, neoline, songorine 및 fuziline을<sup>13)</sup>, 1983년 Hikino 등은 aconitine, mesaconitine, hypaconitine, senbusine C, neoline, ignavine, hokbusine A 및 hokbusine B등을 *Aconitum carmichaeli*에서 분리 보고하였다.<sup>14)</sup>

또한 1984년 Kitagawa 등은 수치한 부자로부터 aconitine, hypaconitine, mesaconitine, talatizamine, 14-acetylaltatizamine, isotalatizamine, karacoline, neoline, lipoaconitine, lipohypaconitine, lipomesaconitine 및 lipodeoxyaconitine등의 성분들을 분리 보고하였다.<sup>15)</sup> 1976년 Kosuge등은 *A. japonicum*으로부터 higenamine, yokonoside를<sup>16)</sup>, 1979년 Sakai 등은 isotalatizidine, condelphine, 11-acetylisohypognavine, diacetylisohypognavine, 14-acetylaltatizamine, takaosamine, takaonine 등을<sup>17)</sup>, 1982년 Takayama 등은 으로부터 neoline, 15- $\alpha$ -hy-

droxyneoline, 15- $\beta$ -hydroxyneoline 등을 *A. japonicum*로부터 분리 보고하였다.<sup>18)</sup>

또한 1982년 Sakai 등은 *A. sanyonense*로부터 hypognavine, sanyonamine을 분리 보고하였고<sup>19)</sup> 20), 1989년 Takayama 등은 isotalatizidine, talatizamine, 14-O-acetylaltatizamine, condelphine, sanyonamine, 10-hydroxyisotalatizidine, 10-hydroxytalatizamine, sanyonamine, N-methyl-laurotetanine, isoboldine 등을<sup>21)</sup>, 또한 1992년에는 *A. sanyonense* var. *tonense*로부터 10-hydroxyisotalatizidine, 10-hydroxytalatizamine, 1-O-acetylhypognavine, 1,15-di-O-acetylhypognavine, hanamiyama base 등을 분리 보고 하였다.<sup>22)</sup> 1977년 Pelletier 등이 *A. miyabei*로부터 sachaconitine, isodelphinine등을<sup>23)</sup>, 1978년 Sakai 등은 *A. gigas*로부터 lycaconitine, atisine, lycoctonine, gigatonine등을 분리 보고하였다.<sup>24)</sup>

1982년 Takayama 등은 *A. yesoense*로부터 1-acetyllicuculine, 14-acetylneoline, pyrochasmaquine, ezochasmaconitine, anisoezochasmaconitine, ezochasmaquine, glaucine 등을<sup>25)</sup>, 1990년 Yue등이 *A. kongboense*로부터 kongboenine, chasmaconitine, talatizamine을<sup>26)</sup>, 1993년 Yue등이 *A. kongboense*로부터 pyrochasmaconitine, pyrocrassicauline A, 14-benzoyltalatizamine 등을 분리 보고 하였다.<sup>27)</sup> 또한 1992년 Sayed 등은 *A. septentrionale*로부터 acosepticine, 4-anthranoyllapaconidine, acoseptridine, acoseptridine, acoseptrinine, 14-O-methylforesticine, 6-demethyldephatine 등을<sup>28)</sup>, 1994년 Hanuman 등은 *A. ferox*로부터 14-O-acetylsenbusine A, vakognavine, aconine등을 분리 보고 하였다.<sup>29)</sup> 한편 1984년 Pelletier 등은 유럽산인 *A. napellus*로부터 aconitine, neoline, napelline, neopelline, mesaconitine, benzoylaconine, hypaconitine등을 분리 보고하였다.<sup>30)</sup>

부자중의 aconitine 계 alkaloid의 정량에 대해서는 Kurosaki에 의해 전반적으로 검토되었고<sup>31)</sup>, Hikino등이 2파장박층크로마토스캔과 가스크로마토그래피를 조합한 방법에 의한 분리 정량을 보고하였다.<sup>32)</sup> 또한 액체 크로마토그래피를 이용한 aconitum 알칼로이드의 정량법 연구가 다수 보고 되었다.<sup>33-37)</sup>

이에 저자는 우리나라 특산 약품식물의 하나인 지리

바꽃에 대한 연구가 없음에 착안하여 국산 천연 의약품의 활용 및 개발이라는 차원에서 지리바꽃 괴경의 생리활성 성분의 분리와 정량을 목적으로 천연물 약품 화학적 접근으로 본 연구를 실시하여 Dragendorff 시약에 주황색으로 발색하는 화합물 5종을 분리하여, 각종 이화학적 실험과 IR, UV, EI-MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  등의 기기 분석소건을 통하여 mesaconitine, aconitine, hypaconitine, 8-O-ethy-14-benzoyl-mesaconine 및 talatizamine으로 각각 확인, 동정하였다.

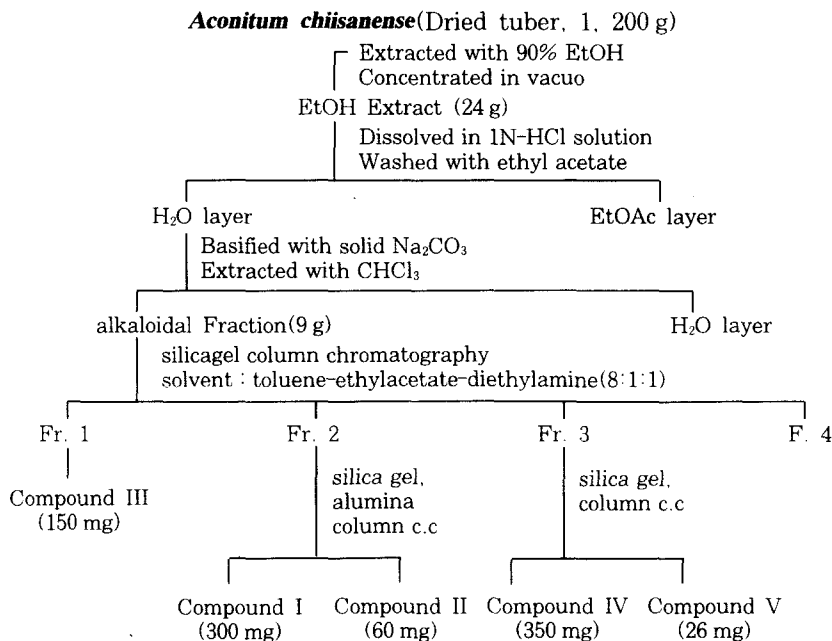
또한 지리바꽃의 괴경인 초오를 모근과 자근으로 구분하여 HPLC를 실시하여 정량한 결과, 각각의 함량은 mesaconitine이 모근에는 0.300%, 자근에는 0.336% 이었고, aconitine은 모근에 0.024%, 자근에 0.034%이었으며 hypanonitine은 모근에 0.068%, 자근에 0.240% 함유되어 있음을 확인하였다.

### 실험방법

**재료 및 기기** - 우리나라에 자생하는 부자의 동속 식물 중에서 한국 특산 식물인 지리바꽃 *Aconitum chiisanense*를 1993년 8월 지리산에서 채집하여 식물학적

감정을 거친 후 그 근경을 음건한 후 조말로 하여 사용하였고 정량용 재료는 1994년 8월 지리산에서 채집하여 음건한 재료를 세말로하여 사용하였다. 사용된 기기로는 M.P. 측정기기로 Mettler FP-90 (Switzerland)를 그리고 IR spectrophotometer로는 Bruker IFS 48(Germany)를 사용하였고 또한 UV spectrophotometer는 Beckman DU-68 spectrophotometer(Germany)를 사용하였다. 한편  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrometer는 Bruker AM-200, 200 MHz (Germany)를 그리고 GC-EI Mass spectrometer로는 GC-MS/MS, Finnigan TSQ 700 (U.S.A.)를 사용하였다. 기타 측정기기로는 Polarimeter로 Jasco DIP-370 Digital Polarimeter (Japan)를, HPLC로는 Waters 486를 그리고 원소분석기기로는 Control equipment Co. 240-XA (U.S.A)를 사용하였다.

**추출 및 알칼로이드 분획의 제조** - 음건하여 분쇄한 재료 1,200 g을 Scheme I과 같이 90% EtOH 5 l로 3회 냉침 추출하여 추출액을 40° 이하에서 감압농축하여 얻은 EtOH 추출물 240 g을 3% 염산수용액 500 ml에 현탁한 후 ethyl acetate(500 ml×3회)로 분획하였다. 다시 수층을  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 로 pH 7로 중화한 후 5%



**Scheme I**— Extraction and isolation of alkaloids from the tuber *Aconitum chiisanense*.

MeOH 함유  $\text{CHCl}_3$ (500 ml $\times$ 3회) 으로 추출하여 추출액을 얻고 이를 감압농축하여 알칼로이드 분획 9g을 얻었다. 알칼로이드 분획을 toluene-ethylacetate-diethylamine(8:1:1) 을 전개용매로하여 TLC를 실시하여 Dragendorff 시약에 양성인 몇개의 spot를 관찰하고, 그 전개용매를 사용하여 silica gel column chromatography 를 실시한 후 TLC pattern에 의해 4개의 fraction으로 나누었다.

**Compound I, II의 단리** - 재료의 EtOH 추출을 Scheme I에서와 같이 처리하여 얻은 알칼로이드 분획을 silica gel column chromatography(3 cm  $\phi$  $\times$ 50 cm, toluene : ethylacetate : diethylamine=8:1:1) 를 실시하여 fraction 1-fraction 4를 얻었다. Dragendorff 시약에 양성인 fraction 2를 모아 Sephadex LH-20 column chromatography(3 cm $\phi$  $\times$ 80 cm, MeOH)를 실시하여 얻은 subfraction 23-31을, 다시 silica gel column chromatography(3 cm $\phi$  $\times$ 50 cm,  $\text{CHCl}_3$  : MeOH :  $\text{NH}_4\text{OH}$ =90:10:0.5)를 실시하여 정제한 후, 이를 감압 농축한 다음 MeOH에서 재결정하여 mp 205~207°의 무색판상 결정 Compound I(300 mg)을 얻었고 또한 fraction 2의 subfraction 19-24를 다시 silica gel 및 alumina column chromatography(3 cm  $\phi$  $\times$ 50 cm,  $\text{CHCl}_3$  : MeOH :  $\text{NH}_4\text{OH}$ =90:10:0.5)를 반복 실시하여 정제한 다음, 이를 감압 농축하여 mp 198~200°의 무색분말상의 Compound II(60 mg)를 각각 얻었다.

**Compound I의 물리화학적 성상** - white needle crystal, m.p. : 205~207°, Anal. calcd. for  $\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{NO}_{11}$  : C : 62.74%, H : 7.18%, N : 2.22%, Found: C : 62.72%, H : .21%, N : 2.24%,  $[\alpha]_D^{25}$  : + 20.83°(c=0.24, MeOH),  $\text{IR } \nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$  : 3505(OH), 1712(COO), 1276 (COOCH<sub>3</sub>), 1116, 1098 (CO), 716(aromatic ring), UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) : 237.5, 273.0, EIMS m/z : 631( $\text{M}^+$ ), 600( $\text{M}-\text{OCH}_3$ )<sup>+</sup>, 572( $\text{M}-\text{OAc}$ )<sup>+</sup>, 540( $\text{M}-\text{OCH}_3-\text{HOAc}$ )<sup>+</sup>, 105( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ )<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) : 1.38(3H, s,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 2.34(3H, s,  $\text{N}-\text{CH}_3$ ), 3.17, 3.29, 3.30, 3.74(each 3H, s, 4 $\times$ OCH<sub>3</sub> : C<sub>6</sub>-OCH<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-OCH<sub>3</sub>, C<sub>18</sub>-OCH<sub>3</sub>, C<sub>16</sub>-OCH<sub>3</sub>), 4.04 (1H, d, J=6.6Hz, C<sub>6</sub>- $\beta$ H), 4.36(1H, d, J=2.8Hz, C<sub>15</sub>-OH), 4.47(1H, dd, J=2.8, 5.0Hz, C<sub>15</sub>- $\beta$ H), 4.88 (1H, d, J=4.9Hz, C<sub>14</sub>- $\beta$ H), 7.48(2H, t, J=7.0Hz, Ar-3', 5'-H), 7.57(1H, t, J=7.2Hz, Ar-4'-

H), 8.04 (2H, dd, J=2.1, 7.0Hz, Ar-2', 6'-H), <sup>13</sup>C-NMR( $\text{CDCl}_3$ , 50MHz) : Table I

**Compound II의 물리화학적 성상** - white needle crystal, m.p. : 198~200°, Anal. calcd. for  $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}$  : C : 63.24%, H : 7.34%, N : 2.17%, Found: C : 63.25%, H : 7.37%, N : 2.19%,  $[\delta]_D^{25}$  : + 14.545°(c=0.275, MeOH),  $\text{IR } \nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$  : 3496 (OH), 1718 (COO), 1277(COOCH<sub>3</sub>), 1115, 1096 (CO), 717(aromatic ring), UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) : 236.0, 273.0, MS m/z : 645( $\text{M}^+$ ), 630( $\text{M}-\text{CH}_3$ )<sup>+</sup>, 614( $\text{M}-\text{OCH}_3$ )<sup>+</sup>, 570( $\text{M}-\text{CH}_3-\text{HOAc}$ )<sup>+</sup>, 554[( $\text{M}-\text{OCH}_3-\text{HOAc}$ )<sup>+</sup>, 105( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ )<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR( $\text{CDCl}_3$ , 200MHz) : 1.09 (3H, t, J=7.1Hz,  $-\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.38(3H, s,  $\text{OCO}-\text{CH}_3$ ), 3.16, 3.26, 3.29, 3.74 (each, 3H, s, 4 $\times$ OCH<sub>3</sub> : C<sub>6</sub>-OCH<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-OCH<sub>3</sub>, C<sub>18</sub>-OCH<sub>3</sub>, C<sub>16</sub>-OCH<sub>3</sub>), 4.03 (1H, d, J=6.3Hz, C<sub>6</sub>- $\beta$ H), 4.39(1H, d, J=2.7Hz, C<sub>15</sub>-OH), 4.46(1H, dd, J=2.7, 5.3Hz, C<sub>15</sub>- $\beta$ H), 4.87(1H, d, J=4.98Hz, C<sub>14</sub>- $\beta$ H), 7.43(2H, t, J=7.0Hz, Ar-3', 5'-H), 7.56(1H, t, J=7.2Hz, Ar-4'-H), 8.02 (2H, dd, J=7.0, 1.4 Hz, Ar-2', 6'-H), <sup>13</sup>C-NMR( $\text{CDCl}_3$ , 50MHz) : Table I

**Compound III의 단리** - 재료의 EtOH 추출물을 Scheme I에서와 같이 처리하여 얻은 알칼로이드 분획을 silica gel column chromatography(3 cm $\phi$  $\times$ 50 cm, toluene : ethylacetate : diethylamine=8:1:1) 를 실시하여 fraction 1-fraction 4를 얻었다. Dragendorff 시약에 양성인 fraction 1을 모아 Sephadex LH-20 column chromatography(3 cm $\phi$  $\times$ 80 cm, MeOH)를 실시하여 얻은 subfraction 29-34를 다시 silica gel column chromatography(3 cm $\times$ 50 cm,  $\text{CHCl}_3$  : MeOH :  $\text{NH}_4\text{OH}$ =90:10:0.5)를 실시하여 정제한 다음 이를 감압 농축하여 hexane-EtOAc(1:1)의 혼합용매로 재결정을 시도, mp 195~198°의 무색판상 결정 Compound III(150 mg)을 얻었다.

**Compound III의 물리화학적 성상** - white needle crystal, m.p. : 195~198°, Anal. calcd. for  $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_{10}$  : C : 64.37%, H : 7.37%, N : 2.28%, Found: C : 64.41%, H : 7.33%, N : 2.32%,  $[\alpha]_D^{17}$  : +22.4°(c=0.38 $\text{CHCl}_3$ )  $\text{IR } \nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$  : 3503(OH), 1725(COO), 1279(COOCH<sub>3</sub>), 1093(CO), 711 max(aromatic ring), UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) : 230.0, 273.0, MS

**Table I**—<sup>13</sup>C-NMR spectral data of compounds I, II, III, IV and V

Carbon No.	Com- pound I	Com- pound II	Com- pound III	Com- pound IV	Com- pound V
1	83.3	83.3	85.1	82.1	86.3
2	37.8	35.8	26.4	36.0	15.8
3	66.7	71.5	34.9	71.0	32.7
4	43.6	43.1	39.3	43.3	38.6
5	45.0	46.8	48.2	45.0	45.8
6	81.9	82.3	83.2	79.3	24.7
7	44.7	44.6	44.5	44.8	45.9
8	91.5	92.0	91.9	93.2	72.8
9	44.0	44.2	43.8	42.3	46.9
10	40.0	40.8	41.1	41.1	46.0
11	49.4	49.9	49.9	50.4	48.7
12	35.5	33.6	36.3	33.2	27.7
13	74.4	76.7	74.1	74.6	37.6
14	78.5	77.0	78.8	77.9	75.5
15	79.0	78.9	78.9	79.3	38.4
16	91.4	89.9	90.1	93.2	82.2
17	61.6	61.1	62.2	63.0	62.9
18	71.7	74.0	80.2	76.2	79.4
19	48.9	49.0	56.0	49.7	53.2
N-CH <sub>3</sub>	42.6		42.6	42.3	
N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>		46.9			49.5
N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>		13.3			12.6
O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>				57.1	
O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>				15.1	
1'OMe	55.6	55.9	56.5	56.1	56.2
6'OMe	58.3	58.0	57.9	58.5	
16'OMe	61.4	61.0	60.9	62.0	56.4
18'OMe	58.4	59.1	59.0	59.0	59.4
Co-Ar					
CO	165.6	166.1	166.1	166.1	
1	129.8	129.7	128.8	130.1	
2	129.4	129.6	129.6	129.6	
3	129.1	128.6	128.6	128.2	
4	133.8	133.3	133.2	132.8	
CO-CH <sub>3</sub>	171.9	172.4	172.4		
CO-CH <sub>3</sub>	21.3	21.4	21.4		

m/z : 615[M<sup>+</sup>], 584[M-OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 572[M-OAc]<sup>+</sup>, 524 [(M-OCH<sub>3</sub>-HOAc)<sup>+</sup>, 105(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200MHz) : 1.38(3H, s, -OCOCH<sub>3</sub>), 2.39 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 3.16(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.28(6H, s, 2×-OCH<sub>3</sub>), 3.74(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.98(1H, d, J=4.8 Hz, C<sub>6</sub>-βH), 4.36(1H, d, J=2.7Hz, C<sub>15</sub>-OH), 4.47 (1H, dd, J=2.9, 5.2Hz, C-C<sub>15</sub>-βH), 4.89(1H, d, J=4.8Hz, 14-βH), 7.48(2H, dd, J=7.0, 7.5Hz, Ar-3', 5'-H), 7.54(1H, t, J=7.7Hz, Ar-4'-H), 8.04(2H, d, J=7.0Hz, Ar-2', 6'-H), <sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 50MHz) : Table I

**Compound IV, V의 단리** - 재료의 EtOH 추출물을 Scheme I에서와 같이 처리하여 얻은 알칼로이드 분획

을 silica gel column chromatography(3 cm φ×50 cm, toluene-ethylacetate-diethylamine=8:1:1)를 실시하여 fraction 1→fraction 4를 얻었다. Dragendorff 시약에 양성인 fraction 3을 모아 Sephadex LH-20 column chromatography(3 cm φ×80 cm, MeOH)를 실시하여 얻은 subfraction 19-23을 다시 silica gel column chromatography(3 cm×50 cm, CHCl<sub>3</sub>-MeOH-NH<sub>4</sub>OH=90:10:0.5)를 실시하여 정제한 다음 이를 감압농축하여 mp 148~150°의 무색분말상의 Compound IV(350 mg)를 얻었고 또 fraction 3의 subfraction 29-35를 다시 silica gel column chromatography(3 cm×50 cm, CHCl<sub>3</sub> - MeOH-NH<sub>4</sub>OH=90:10:0.5)를 실시하여 정제한 다음 이를 감압농축하여 mp 144~147°의 무색분말상의 compound V(26 mg)를 각각 얻었다.

**Compound IV의 물리화학적 성상** - white needle crystal, m.p. : 148~150°, Anal. calcd. for C<sub>33</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>10</sub> : C : 64.16% H : 7.67 % N : 2.27 %, Found: C : 64.17%, H : 7.70%, N : 2.19%, [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> : +11.8° (c=0.17, MeOH), IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup> : 3420(OH), 1719 (COO), 1098(C), 710(aromatic ring), UV λ<sub>max</sub>, nm(CH<sub>3</sub>CN) : 241.0, 273.0, MS m/z : 617[M<sup>+</sup>], 602[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 586[M-OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 554[(M-OCH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH)<sup>+</sup>, 105(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 200MHz) : 0.58(3H, t, J=6.8Hz, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.45(3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 3.28(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.30(3H, s, -OCH<sub>3</sub>) 3.37 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.81(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.09(1H, d, J=5.8Hz, C<sub>6</sub>-βH), 4.56(1H, t, J=5.0Hz, C<sub>15</sub>-βH), 4.83(1H, d, J=5.0Hz, 14-βH), 7.45(2H, t, J=7.0Hz, Ar-3', 5'-H), 7.54(1H, dd, J=2.6, 7.2Hz, Ar-4'-H) 8.05(2H, dd, J=1.4, 7.0Hz, Ar-2', 6'-H), <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 50MHz) : Table I

**Compound V의 물리화학적 성상** - white needle crystal, m.p. : 144~147°, Anal. calcd. for C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>5</sub> : C : 68.41% H : 9.26% N : 3.33%, Found: C : 68.74%, H : 9.41%, N : 3.09%, [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> : -4.9°(c=0.08, MeOH), IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup>cm<sup>-1</sup> : 3428(OH), 1095(CO) cm<sup>-1</sup>, MS m/z : 421[M<sup>+</sup>], 390[M-OCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 200MHz) : 1.47(3H, t, J=6.3Hz, -NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.05, 3.21(each 1H, s, C<sub>18</sub>-H<sub>2</sub>), 3.30, 3.40, 3.49 (each, 3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.26(1H, t, J=4.8 Hz, C<sub>14</sub>-βH), <sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 50MHz) : Table I

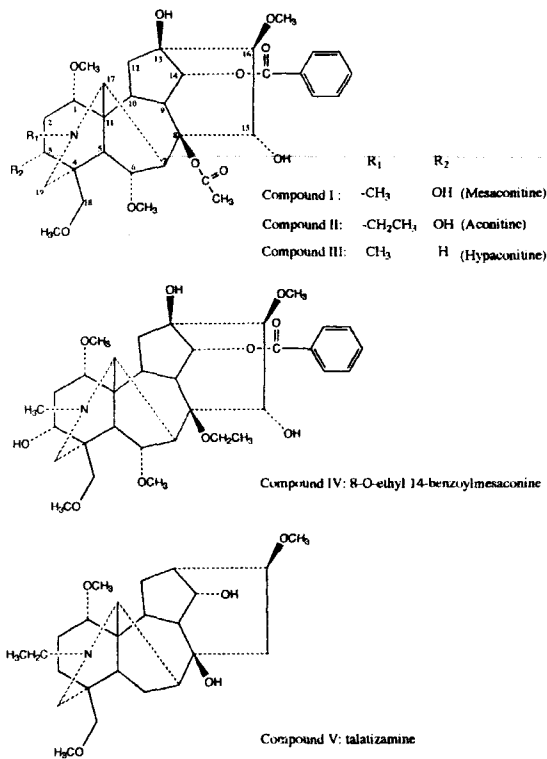


Fig. 1— Structure of Compounds I~IV from the tuber of *Aconitum chiisanense*.

### 초오 모근 및 자근의 알칼로이드 정량

**시료용액의 조제** - 음건하여 분말화시킨 식물재료의 무게를 정밀히 달아 여기에 1 mM 염산(pH 3)을 가하여 진탕한 후 30분간 초음파 처리한 다음 이것을 10분간 4,000 rpm 으로 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이 조작을 한번 더 반복하여 합친 상등액을 미리 MeOH, Water, 1 mM HCl로 순차적으로 세척한 SEP-PAK(C<sub>18</sub>, Waters Co.)을 통과시켜 alkaloid를 흡착시켰다. 이어서 1 mM HCl 5 ml, H<sub>2</sub>O 20 ml, 15% MeOH 5 ml순으로 세척하고, MeOH 8 ml로 alkaloid를 용출시켰다. 얻어진 용출액을 40° 이하에서 농축 건조 시키고 acetonitrile 5 ml 에 용해시켜 HPLC 용 검체 시료로 하였다.

**표준액의 조제 및 분석조건** - 시판 표준품 또는 지리바꽃으로부터 분리 정제하여 확인 동정한 표준품을 정밀히 달아 CH<sub>3</sub>CN 5 ml에 용해하여 HPLC 용 표준액 시료로 하였다. 시료용액 및 표준용액 20 µl씩 injection하여 하기의 조건에서 측정하였다.

분석기기로는 Waters 486를 검출기로는 Waters 486

Tunable Absorbance Detector(UV 250 nm)를 그리고 Column으로는 Bondapak™ C<sub>18</sub> (3.9×300 mm column)를 사용하였고 이동상으로는 H<sub>2</sub>O : THF : CH<sub>3</sub>CN : Citric acid (80:15:5:1)을 사용하였다.

### 결과 및 고찰

우리나라 특산 약품식물의 하나이며 지리산에 자생하는 지리바꽃 *Aconitum chiisanense*의 지하부를 90% EtOH로 추출하여 EtOH 엑스를 제조하여 상법에 따라 분획하여 알칼로이드 분획을 얻고, 이를 silica gel column chromatography를 실시하여 fraction 1→5로 나눈 다음 그 fraction 1을 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 Compound III을 분리하였고, fraction 2를 silica gel 및 alumina column chromatography 하여 Compound I 및 II를 얻었다. 이어서 fraction 3을 Sephadex LH-20 및 silica gel column chromatography 하여 Compound IV 및 V를 분리하였다.

또한 지리바꽃의 피근인 지리초오를 모근과 자근으로 구분하여 주성분 알칼로이드의 함량을 검토한 결과 mesaconitine, hypaconitine, aconitine을 양호하게 분리 정량할 수 있었으며 그 각각의 함량은 mesaconitine이 모근에 0.300%, 자근에 0.336% 이었고, aconitine은 모근에 0.024%, 자근에 0.034% 이었으며 hypaconitine은 모근에 0.068%, 자근에 0.240% 함유되어 있음을 알 수 있었다.

이상의 모근과 자근의 aconitum 알칼로이드의 정량 결과 일반적으로 모근보다는 자근에 aconitum 알칼로이드가 많이 함유되었음을 알았고, 앞으로 부자의 사용 시 참고가 되리라 사료된다.

**Compound I** - Compound I은 Dragendorff 시약에 양성을 나타내었으며, UV 237.5, 273.0 nm에서 강한 흡수를 나타내었고, IR에서 3505(OH), 1712(COO), 1276(COOCH<sub>3</sub>), 1116 및 1098(CO), 716(aromatic ring)cm<sup>-1</sup>를 나타내었다.

원소 및 MS분석 결과로부터 이 화합물은 C<sub>33</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>11</sub>의 분자식을 가지고 있으며, EI-MS에서 m/z 631에서 molecular ion peak를 나타내었고, molecular ion peak로부터 31 mass unit가 이탈되어 (m/z 600) base peak를 나타낸 것은 C<sub>15</sub>-diterpenoid alkaloid의 C<sub>1</sub>의 methoxyl group을 추정할 수 있었고

$m/z$  572( $M-OAc$ )<sup>+</sup>, 540[( $M-OCH_3-HOAc$ )<sup>+</sup>]의 peak 들은 C-8 위치의  $-OAc$ 의 존재를 시사해 줌으로써 aconitine type의 특징적인 fragmentation pattern을 보여주었다.<sup>27)</sup>

<sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 1개의 acetyl group(3H, singlet,  $\delta$ 1.38 ppm), N-methyl group(3H, singlet,  $\delta$ 2.34 ppm), 네개의 aliphatic methoxyl group(3H×4, singlets,  $\delta$ 3.17, 3.29, 3.30, 3.74 ppm)을 나타내었고,  $\delta$ 4.04 ppm의 signal( $C_6-\beta-H$ , 1H, d,  $J=6.6$ Hz)은 methoxyl 기가 결합된 탄소의 proton임을 나타내었다. 또한  $\delta$ 4.88 ppm의 signal(1H, d,  $J=4.9$ Hz, 14- $\beta-H$ )은 aromatic ester group에 결합된 탄소의 수소로 추정되어  $C_{14}-\beta H$ 로 결정하였고<sup>27)</sup>  $\delta$ 7.40 ppm~ $\delta$ 8.10 ppm에서 benzoyl group의 aromatic proton을 나타내었다.  $\delta$ 1.38 ppm 으로 고자장 shift된 acetate singlet은 C-14 benzoate-C-8 위치에 acetyl기가 결합된 것으로 추정되었다.<sup>23)</sup>

14- $\beta H$ 의 doublet signal은 C-9 또는 C-13에 한개의 hydroxyl group이 있다는 것을 나타내고, 16-O-Methyl의 signal이 저자장( $\delta$ 3.74 ppm)으로 shift 된 것은 C-13-OH의 전형적인 영향에 의한 것이다. 따라서 hydroxyl group 이 C-13에 결합되어있음을 알 수 있었다.<sup>26)</sup>

<sup>13</sup>C-NMR에서 탄소수 33개를 나타내었으나 4개의 methoxyl 기, acetate, N-CH<sub>3</sub>, benzoate의 탄소를 제외하면 골격탄소는 19개로 aconitum 속 식물에서 분리되고 되는 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid임을 알 수 있었다.  $\delta$ 74.4 ppm에서 나타난 C-13의 <sup>13</sup>C-NMR signal은 C-13 위치에 hydroxyl group이 결합되었음을 시사하고, 이것은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 H-14가 doublet signal이라는 것으로 입증된다.<sup>27)</sup>  $\delta$ 71.7 ppm에서 나타난 C-18의 <sup>13</sup>C-NMR signal 또한 이 탄소에 methoxyl group이 결합되어있음을 나타낸다.

천연에서 분리된 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid는 거의 모두가 C<sub>16</sub> 위치에  $\beta-OCH_3$  group을 지니고 있으며, C<sub>15</sub> 위치에  $-OH$  기가 없으면 C<sub>16</sub>의 chemical shift는  $\delta$ 79.5~ $\delta$ 84.5 ppm에서 나타나지만, C<sub>15</sub>-OH인 경우에는  $\delta$ 89.5~ $\delta$ 93.0 ppm에서 나타나므로, C<sub>15</sub>에  $-OH$ 기가 존재함을 알 수 있었고, 또한 C<sub>15</sub>-OH가  $\beta$ -form인 경우에는 C<sub>15</sub>의 chemical shift가  $\delta$ 66~ $\delta$ 69 ppm의 고자장에서 나타나지만  $\alpha$ -form인 경우에는 10 ppm 정

도 저자장 shift되므로 본 화합물은 C<sub>15</sub>- $\alpha-OH$ 로 결합되어 있음을 알 수 있었다.

C<sub>6</sub>-OCH<sub>3</sub> group은  $\beta$ 결합을 하는 경우보다 저자장에 나타난 것으로 보아  $\alpha$ -결합을 하고 있으며, 이는 aconitine type의 일반적인 형태인 C<sub>6</sub>- $\alpha-OCH_3$ 와 잘 일치하고 있고, C<sub>1</sub>의  $-OCH_3$ 는  $\delta$ 83.3 ppm에서 나타난 것으로보아 C<sub>1</sub>- $\alpha-OCH_3$ 임을 인지할 수 있었다.

3번 탄소의 경우 수산기의 존재 유무가 인접 탄소에 영향을 미치게 되어, 3번 탄소에 수산기가 없을 경우에 비하여 3번 탄소는  $\alpha$ -effect에 의해서, 2번 탄소는  $\beta$ -effect에 의하여 저자장으로 이동하고, 19번 탄소는  $\gamma$ -effect에 의하여 고자장 shift 됨을 확인하여 이 화합물은 C<sub>3</sub>- $\alpha-OH$ 를 갖는 것을 알 수 있었고, 또한 18번 탄소도 3번 위치의  $-OH$ 의 영향으로 고자장으로 shift되었음을 알 수 있었다.

이상의 spectral data와 <sup>13</sup>C-NMR assignment 및 표준품과의 비교를 통하여 Compound I을 mesaconitine으로 동정하였다.

**Compound II** - Compound II는 Dragendorff 시약에 양성을 나타내었으며, UV 236.0, 273.0 nm에서 강한 흡수를 나타내었고, IR spectrum에서 3496(OH), 1718(COO), 1277(COOCH<sub>3</sub>), 1115 및 1096(CO), 717(aromatic ring)cm<sup>-1</sup>에서 강한 흡수대를 나타내었다. 원소 및 MS분석결과로부터 이 화합물은 C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>의 분자식을 가지고 있으며, EI-MS에서는  $m/z$  645에서 molecular ion peak를 나타내었고,  $m/z$  630에서 CH<sub>3</sub>기가 떨어져나간 ( $M^+-CH_3$ )가 나타났으며, molecular ion peak로부터 31 mass unit가 이탈되어 ( $m/z$  614) base peak를 나타낸 것은 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid의 C<sub>1</sub>의 methoxyl group을 추정할 수 있었고  $m/z$  570( $M-CH_3-HOAc$ )<sup>+</sup>, 554( $M-OCH_3-HOAc$ )<sup>+</sup>의 peak 들은 C-8 위치의  $-OAc$ 의 존재를 시사해 줌으로써 aconitine type의 특징적인 fragmentation pattern을 보여주었다.<sup>27)</sup>

<sup>1</sup>H-NMR spectrum에서  $-NCH_2CH_3$  group(3H, triplet,  $J=7.1$ Hz,  $\delta$ 1.09 ppm), 1개의 acetyl group(3H, singlet,  $\delta$ 1.38 ppm), 네개의 aliphatic methoxyl group(3H×4, singlets,  $\delta$ 3.16, 3.26, 3.29, 3.74)을 나타내었고,  $\delta$ 4.03 ppm의 signal( $C_6-\beta-H$ , 1H, d,  $J=6.3$ Hz)은 methoxyl 기가 결합된 탄소의 proton임을 나타내었다. 또한  $\delta$ 4.87 ppm의 signal(1H, d,  $J=5.0$ Hz, 14- $\beta H$ )은 aromatic ester

group에 결합된 탄소의 수소로 추정되어 C<sub>14</sub>-βH로 추정하였고<sup>27)</sup> δ7.40 ppm~δ8.10 ppm에서 benzoyl group의 aromatic proton을 나타내었다. 또한 δ1.38 ppm으로 고자장 shift 된 acetate singlet은 C-14에 연결된 benzoyl기에 의한 차폐효과로서 C-8위치에 acetyl기가 결합된 것으로 추정되었다.<sup>23)</sup>

한편 14-βH의 doublet signal은 C-9 또는 C-13에 한개의 hydroxyl group이 있다는 것을 나타내고, 16-O-Methyl의 signal이 저자장(δ3.74 ppm)으로 shift 된 것은 C<sub>13</sub>-OH의 전형적인 영향에 의한 것이다. 따라서 hydroxyl group이 C-13에 결합되어있음을 알 수 있었다.<sup>26)</sup>

<sup>13</sup>C-NMR에서 탄소수 34개를 나타내었으며 4개의 methoxyl 기, acetate, N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, benzoate의 탄소를 제외하면 골격탄소는 19개로 aconitum 속 식물에서 분리되고 되는 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid임을 알 수 있었다. 그리고 β76.7 ppm에서 나타난 C-13의 <sup>13</sup>C-NMR signal은 C-13 위치에 hydroxyl group이 결합되었음을 시사하고, 이것은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 H-14가 doublet signal(J=5.0Hz)이라는 것으로 입증된다.<sup>27)</sup> δ74.0 ppm에서 나타난 C-18의 <sup>13</sup>C-NMR signal 또한 이 탄소에 methoxyl group이 결합되어있음을 알 수 있었다.

천연에서 분리된 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid는 거의 모두가 C<sub>16</sub> 위치에 β-OCH<sub>3</sub> group을 지니고 있으며, C<sub>15</sub> 위치에 -OH기가 없으면 C<sub>16</sub>의 chemical shift는 δ79.5~δ84.5 ppm에서 나타나지만, C<sub>15</sub>-OH인 경우에는 δ89.5~δ93.0 ppm에서 나타나므로, C<sub>15</sub>에 -OH기가 존재함을 알 수 있었고, 또한 C<sub>15</sub>-OH가 α-form인 경우에는 C<sub>15</sub>의 chemical shift가 δ66~δ69 ppm의 고자장에서 나타나지만 β-form인 경우에는 10 ppm 정도 저자장 shift되므로 본 화합물은 C<sub>15</sub>-α-OH로 결합되어 있음을 알 수 있었다.<sup>38)</sup>

C<sub>6</sub>-OCH<sub>3</sub> group은 δ결합을 하는 경우보다 저자장에 나타난 것으로 보아 α-결합을 하고 있으며, 이는 aconitine type의 일반적인 형태인 C<sub>6</sub>-α-OCH<sub>3</sub>와 잘 일치하고 있고<sup>39)</sup>, C<sub>1</sub>의 α-OCH<sub>3</sub>는 δ83.3 ppm에서 나타난 것으로보아 C<sub>1</sub>-α-OCH<sub>3</sub>임을 인지할 수 있었다.<sup>38)</sup>

3번 탄소의 경우 수산기의 존재 유무가 인접 탄소에 영향을 미치게 되어, 3번 탄소에 수산기가 없을 경우에 비하여 3번 탄소는 α-effect에 의해서, 2번 탄소는 β-effect에 의하여 저자장으로 이동하고, 19번 탄소는 γ-

effect에 의하여 고자장 shift 됨을 확인하여 이 화합물은 C<sub>3</sub>-α-OH를 갖는 것을 알 수 있었고, 또한 18번 탄소도 3번 위치의 -OH의 영향으로 고자장으로 shift되었음을 알 수 있었다.

이상의 spectral data와 <sup>13</sup>C-NMR assignment 및 표준품과의 비교를 통하여 Compound II를 aconitine으로 동정하였다.

**Compound III** - Compound III은 Dragendorff 시약에 양성을 나타내었으며, UV 230.0, 273.0 nm에서 강한 흡수를 나타내었고, IR에서 3503(OH), 1725(COO), 1279(COOCH<sub>3</sub>), 1093(CO), 711(aromatic ring)cm<sup>-1</sup>를 나타내었다.

원소 및 MS분석결과로부터 이 화합물은 C<sub>33</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>10</sub>의 분자식을 가지고 있으며, EI-MS에서는 m/z 615에서 molecular ion peak를 나타내었고, molecular ion peak로부터 31 mass unit가 탈락되어 (m/z 584) base peak를 나타낸 것은 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid의 C<sub>1</sub>의 methoxyl group을 추정할 수 있었고 m/z 555([M-AcOH]<sup>+</sup>), 524([M-OCH<sub>3</sub>-HOAc]<sup>+</sup>)의 peak 들은 C-8 위치의 -OAc의 존재를 시사해 줌으로써 aconitine type의 특징적인 fragmentation pattern을 보여 주었다.<sup>27)</sup>

<sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 1개의 acetyl group(3H, singlet, δ1.38 ppm), N-methyl group(3H, singlet, δ2.39 ppm), 네개의 aliphatic methoxyl group(3H×4, singlets, δ3.16, 3.28×2, 3.74)을 나타내었고, δ3.98 ppm의 signal(C<sub>6</sub>-βH, 1H, d, J=4.8Hz)은 methoxyl 기가 결합된 탄소의 proton임을 나타내었다. 또한 δ4.89 ppm의 signal(1H, d, J=4.8Hz, 14-βH)은 aromatic ester group에 결합된 탄소의 수소로 C<sub>14</sub>-βH로 결정하였고<sup>27)</sup> δ 7.40 ppm~δ 8.10 ppm에서 benzoyl group의 aromatic proton을 나타내었다. 한편 δ 1.38 ppm으로 고자장 shift 된 acetate singlet은 C-14 benzoyl기에 의한 차폐효과에 의한 것으로서 C-8위치에 acetyl기가 결합된 것으로 추정되었다.<sup>23)</sup>

14-βH의 doublet signal(J=4.8Hz)은 C-9 또는 C-13에 한개의 hydroxyl group이 있다는 것을 나타내고, δ 3.74 ppm으로 가장 저자장에서 나타난 methoxyl group은 C-13-OH의 전형적인 영향에 의한 것으로 hydroxyl group이 C-13에 결합되어있음을 알 수 있었다.<sup>26)</sup>

<sup>13</sup>C-NMR에서 탄소수 33개를 나타내었으나 4개의



methoxyl 기, acetate, N-CH<sub>3</sub>, benzoate의 탄소를 제외하면 골격탄소는 19개로 aconitum 속 식물에서 분리되고 되는 C<sub>19</sub>-diterpenoide 임을 알 수 있었다.  $\delta$ 74.1 ppm에서 나타난 C-13의 <sup>13</sup>C-NMR signal은 C-13 위치에 hydroxyl group이 결합되었음을 추정할 수 있었고, 이것은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 H-14 $\beta$ 가 doublet signal(J=4.8Hz)이라는 것으로 입증된다.<sup>27)</sup>  $\delta$ 80.2 ppm 에서 나타난 C-18의 <sup>13</sup>C-NMR signal 또한 이 탄소에 methoxyl group이 결합되어있음을 나타낸다.

천연에서 분리된 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid는 거의 모두가 C<sub>16</sub> 위치에  $\beta$ -OCH<sub>3</sub> group을 지니고 있으며, C<sub>15</sub> 위치에 -OH 기가 없으면 C<sub>16</sub>의 chemical shift는 79.5~84.5 ppm에서 나타나지만, C<sub>15</sub>-OH인 경우에는 89.5~93.0 ppm 에서 나타나므로, C<sub>15</sub>에 -OH기가 존재함을 알 수 있었고, 또한 C<sub>15</sub>-OH가  $\beta$ -form인 경우에는 C<sub>15</sub>의 chemical shift가 66~69 ppm의 고자장에서 나타나지만  $\alpha$ form인 경우에는 10 ppm 정도 저자장 shift되므로 본 화합물은 C<sub>15</sub>- $\alpha$ -OH로 결합되어 있음을 알 수 있었다.<sup>30)</sup>

C-7의 chemical shift가 44.5 ppm에서 나타나는 것으로 보아 aconitine type의 diterpenoid로서 C-7의 위치에 산소가 결합하지 않고 있음을 알 수 있고, C-6의 C<sub>6</sub>-OCH<sub>3</sub> group은  $\beta$ 결합을 하는 경우보다 저자장 ( $\delta$ 83.2 ppm)에 나타난 것으로 보아  $\alpha$ -결합을 하고 있으며, 이는 aconitine type의 일반적인 형태인 C<sub>6</sub>- $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>와 잘 일치하고 있고<sup>39)</sup>, C<sub>1</sub>의 -OCH<sub>3</sub>는 83.3 ppm에서 나타난 것으로보아 C<sub>1</sub>- $\alpha$ -OCH<sub>3</sub> 임을 인지할 수 있었다.<sup>38)</sup>

이상의 spectral data 와 <sup>13</sup>C-NMR assignment 및 표준품과의 비교를 통하여 Compound III을 hy-paconitine으로 동정하였다.

**Compound IV** - Compound IV는 Dragendorff 시약에 양성을 나타내었으며, UV 241.0, 273.0 nm에서 강한 흡수를 나타내었고, IR에서 3420(OH), 1719(COO), 1098 (CO), 710(aromatic ring)cm<sup>-1</sup>에서 강한 흡수대를 나타내었다.

원소 및 MS분석결과로부터 이 화합물은 C<sub>33</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>10</sub>의 분자식을 가지고 있으며, EI-MS에서는 m/z 617에서 molecular ion peak를 나타내었고, molecular ion peak로부터 31 mass unit가 이탈되어 (m/z 586) base peak를 나타낸 것은 C<sub>19</sub>-diterpenoide al-

kaloid 의 C<sub>1</sub>의 methoxyl group을 추정할 수 있었고 m/z 602[M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 572[[M-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>의 peak는 ethyl group이 결합되어 있음을 보여주었다.<sup>27)</sup>

<sup>1</sup>H-NMR spectrum의 pattern은 mesaconitine과 거의 동일하였으나, mesaconitine에서 관찰되었던  $\delta$  1.38 ppm의 CH<sub>3</sub>CO-가 관찰되지 않은대신 고자장 shift 된 CH<sub>3</sub> 기가 하나 증가하고 DEPT spectrum에서 저자장 shift된 CH<sub>2</sub>가 관찰됨을 확인 할 수 있었고, methyl group(3H, singlet,  $\delta$ 0.58 ppm), N-methyl group(3H, singlet,  $\delta$ 2.45 ppm), 네개의 aliphatic methoxyl group(3H $\times$ 4, singlets,  $\delta$ 3.28, 3.30, 3.37, 3.81)을 나타내었고,  $\delta$ 4.09 ppm의 signal(C6- $\beta$ H, 1H, d, J=5.8Hz)은 methoxyl 기가 결합된 탄소의 proton임을 나타내었다. 또한  $\delta$ 4.83 ppm의 signal(1H, d, J=5.0Hz, 14- $\beta$ H)은 aromatic ester group에 결합된 탄소의 수소로서 추정되어 C<sub>14</sub>- $\beta$ H로 결정하였고<sup>27)</sup>  $\delta$ 7.40 ppm~ $\delta$ 8.10 ppm에서 benzoyl group의 aromatic proton을 나타내었다. 또 14- $\delta$ -H의 doublet signal은 C-9 또는 C-13에 한개의 hydroxyl group이 있다는 것을 나타내고, 16-O-methyl의 signal이 저자장( $\delta$ 3.79 ppm)으로 shift 된 것은 C-13-OH의 전형적인 영향에 의한 것이고,  $\delta$ 3.81 ppm으로 가장 저자장에서 나타난 16-O-methyl의 signal은 C<sub>13</sub>-OH의 전형적인 영향에 의한 것으로 hydroxyl group이 결합되어 있음을 알 수 있었다.<sup>26)</sup>

<sup>13</sup>C-NMR spectrum을 측정한 결과 33개의 carbon peak가 관찰되었으며 DEPT spectrum에서 6개의 C, 16개의 CH, 5개의 CH<sub>2</sub>, 6개의 CH<sub>3</sub>를 관찰할 수 있었고, 4개의 methoxyl 기, N-CH<sub>3</sub>, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, benzoate의 탄소를 제외하면 골격탄소는 19개로 aconitum 속 식물에서 분리되고 되는 C<sub>19</sub>-diterpenoide 임을 알 수 있었다. 각 탄소의 chemical shift는 mesaconitine과 mesaconitine의 C-8의 위치에 -OCH<sub>3</sub>이 치환되어 있는 hokbusine A 및 C-8의 위치에 O-CH<sub>2</sub>Me가 치환되어 있는 Kongboenine의 spectrum을 비교하여 결정하였다.  $\delta$ 74.6 ppm에서 나타난 C-13의 <sup>13</sup>C-NMR signal은 C-13 위치에 hydroxyl group이 결합되었음을 시사하고, 이것은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 H-14 $\beta$ 가 doublet signal이라는 것으로 입증된다.<sup>27)</sup>  $\delta$ 76.2 ppm에서 나타난 C-18의 <sup>13</sup>C-NMR signal 또한 이 탄소에 methoxyl group이 결합되어있음을 나타낸다.

천연에서 분리된 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid는 거의 모두가 C<sub>16</sub> 위치에 -OCH<sub>3</sub> group을 지니고 있으며, C<sub>15</sub> 위치에 -OH 기가 없으면 C<sub>16</sub>의 chemical shift는 δ 79.5~884.5 ppm에서 나타나지만, C<sub>15</sub>-OH인 경우에는 δ 889.5~893.0 ppm 에서 나타나므로, C<sub>15</sub>에 -OH가 존재함을 알 수 있었고, 또한 C<sub>15</sub>-OH가 β-form인 경우에는 C<sub>15</sub>의 chemical shift가 δ 66~β 69 ppm의 고자장에서 나타나지만 α-form인 경우에는 10 ppm 정도 저자장 shift되므로 본 화합물은 C<sub>15</sub>-α-OH로 결합되어 있음을 알 수 있었다.<sup>38)</sup>

C<sub>6</sub>-OCH<sub>3</sub> group은 결합을 하는 경우보다 저자장에서 나타난 것으로 보아 α-결합을 하고 있으며, 이는 aconitine type의 일반적인 형태인 C<sub>6</sub>-α-OCH<sub>3</sub>와 잘 일치하고 있고<sup>39)</sup>, C<sub>1</sub>의 -OCH<sub>3</sub>는 δ 83.3 ppm에서 나타난 것으로보아 C<sub>1</sub>-α-OCH<sub>3</sub>임을 인지할 수 있었다.<sup>38)</sup>

3번 탄소의 경우 수산기의 존재 유무가 인접 탄소에 영향을 미치게 되어, 3번 탄소에 수산기가 없을 경우에 비하여 3번 탄소는 α-effect에 의해서, 2,4번 탄소는 β-effect에 의하여 저자장으로 이동하고, 19번 탄소는 γ-effect에 의하여 고자장 shift 됨을 확인하여 이 화합물은 C<sub>3</sub>-α-OH를 갖는 것을 알 수 있었고, 또한 18번 탄소도 3번 위치의 -OH의 영향으로 고자장으로 shift 되었음을 알 수 있었다.

이 화합물은 90% EtOH 수용액을 추출용매로 사용하였을 때 냉침중 주성분인 mesaconitine의 8번의 acetoxyl기가 이탈되기 쉬운 쪽 있는 관계로 인하여 반응이 용이하게 진행하여 생성된 것으로 추정되어 mesaconitine을 화학적으로 합성하여 반응 생성물을 비교하여 확인하였다.<sup>40)</sup>

이상의 spectral data와 <sup>13</sup>C-NMR assignment를 통하여 Compound IV를 8-O-ethyl 14-benzoyl mesaconine으로 결정하였다.

**Compound V** - Compound V는 Dragendorff 시약에 양성을 나타내었으며, UV에서 흡수를 나타내지 않았고, IR에서 3428(OH), 1095(CO)cm<sup>-1</sup>를 나타내었고, benzoyl 기는 존재하지 않음을 알 수 있었다. EI-MS에서는 m/z 421에서 molecular ion peak를 나타내었고, molecular ion peak로부터 31 mass unit가 이탈되어 (m/z 390) base peak를 나타낸 것은 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid의 C<sub>1</sub>의 methoxyl group을 추정할 수 있었다.<sup>27)</sup>

<sup>1</sup>H-NMR spectrum에서는 δ 1.47 ppm의 N-CH<sub>2</sub>

CH<sub>3</sub>(3H, t, J=6.3Hz), δ 3.05 ppm 및 δ 3.21 ppm에서 C<sub>18</sub>-methylene(each 1H, d, J=9.0Hz), δ 3.30, 3.40, 3.49 ppm에서 세개의 aliphatic methoxyl group(each 3H, s)을 나타내었다. δ 4.26 ppm에서 나타난 C<sub>14</sub>-βH(1H, t, J=4.8Hz)은 C-9 및 C-13에 각각 한개씩 methylene proton이 존재한다는 것을 증명해 준다.<sup>26)</sup>

<sup>13</sup>C-NMR spectrum을 측정한 결과 24개의 carbon peak가 관찰되었으며, C-6의 signal이 δ 24.7 ppm의 고자장에서 나타나는 것으로 보아 이 위치의 methoxyl기가 탈락된 것을 추정할 수 있었고 C-13의 signal이 δ 37.6 ppm에서, C-15의 signal이 δ 38.4 ppm에서 나타나는 것으로 보아 이 위치에 각각 치환기가 결합되어 있지 않음을 알 수 있었다.

천연에서 분리된 C<sub>19</sub>-diterpenoide alkaloid는 거의 모두가 C<sub>16</sub> 위치에 β-OCH<sub>3</sub> group을 지니고 있으며 C<sub>15</sub> 위치에 -OH기가 없으면 C<sub>16</sub>의 chemical shift는 δ 79.5~884.5 ppm에서 나타나고 C<sub>15</sub>-OH인 경우에는 δ 889.9~93.0 ppm에서 나타나는데 이 화합물의 C<sub>16</sub>의 chemical shift는 δ 82.2 ppm으로서 C<sub>15</sub>에 -OH기가 결합되어 있지 않음을 알 수 있었다.

C<sub>1</sub>의 -OCH<sub>3</sub>는 δ 86.3 ppm에서 나타난 것으로 보아 C<sub>1</sub>-α-OCH<sub>3</sub>임을 인지할 수 있었고 δ 32.7 ppm에서 나타난 C<sub>3</sub>의 methylene signal은 이 위치에 수산기가 존재하는 Compound I과 비교하여 볼 때 C<sub>2</sub>와 C<sub>4</sub>가 각각 β-effect의 손실로 고자장에서 나타남을 알 수 있었으며 C<sub>18</sub>와 C<sub>19</sub>가 각각 저자장으로 shift되었음을 확인할 수 있었고 각 탄소의 chemical shift는 문헌<sup>41)</sup>과 일치하였다.

이상의 spectral data를 통한 기기분석 결과와 문헌의 data와의 비교를 통하여 Compound V를 talatizamine으로 동정하였다.

### 알칼로이드의 정량

모근 및 자근으로부터의 Aconitum 알칼로이드의 추출 및 조제 - 지리바꽃의 모근 및 자근으로부터의 알칼로이드의 추출은 알칼로이드의 염기성에 주목하여 묽은염산(pH 3)을 이용하여 추출함으로써 지질등의 이행을 억제하였고 이 조작을 2회 시행하였다.

시료용액의 조제법으로서 SEP-PAK 처리를 하였다. 즉 미리 메탄올, 물 및 1mM HCl로 세척한 SEP-PAK에 알칼로이드를 흡착시킨다음 알칼로이드 이외

의 수용성 물질은 수세에 의하여 제거하고 흡착된 알칼로이드는 메탄올을 이용하여 용출시켰다. 표준품 및 시료를 아세트니트릴에 용해하여 HPLC 용 표준 및 시료 용액으로 하였다.

#### 모근 및 자근중의 Aconitum 알칼로이드의 함량측정

- 모근 및 자근중의 mesaconitine, hyaconitine, aconitine의 함량을 검토하기 위하여 조제된 각 시료용액을 HPLC로 3회씩 측정하여 얻은 수치의 평균값을 얻었다. 지리초를 모근과 자근으로 구분하여 주성분 알칼로이드를 정량한 결과 mesaconitine, hyaconitine, aconitine을 양호하게 분리 정량할 수 있었으며 그 각각의 함량은 mesaconitine이 모근에는 0.300%, 자근에는 0.336% 이었고, aconitine은 모근에 0.024%, 자근에 0.034% 이었으며 hyaconitine은 모근에 0.068%, 자근에 0.240% 함유되어 있음을 알 수 있었다.

### 결 론

우리나라 특산 약품식물이며 중요 생약인 부자의 기원 식물인 지리바꽃 *Aconitum chiisanense*의 피경을 천연물약품 화학적 접근으로 알칼로이드 분획을 얻고, 이를 silicagel column chromatography, alumina column chromatography 등을 실시하여 Dragendorff 시약에 양성을 나타내는 5종의 물질을 분리하였다.

알칼로이드 분획에서 분리된 5종의 물질들은 그 물리화학적 성상과 IR, UV, EI-MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  등의 기기 분석조건으로 Compound I은  $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_{11}$ 인 mesaconitine, Compound II는  $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}$ 인 aconitine, Compound III은  $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_{10}$ 인 hyaconitine, Compound IV는  $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_{10}$ 인 8-O-ethyl 14-benzoylmesaconine, 그리고 Compound V는  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_5$ 인 talatizamine으로 각각 확인 동정하였다.

또한 지리바꽃의 피경을 모근과 자근으로 나누어 역상계 담체를 이용한 고속액체크로마토그래피를 이용하여 알칼로이드 함량을 정량한 바, mesaconitine, aconitine, hyaconitine은 모근에서 0.300%, 0.024%, 0.068%, 자근에서 0.336%, 0.034%, 0.240%의 비율로 각각 함유되어 있었으며 모근보다는 자근에 알칼로이드가 많이 함유되어 있어, 신생근에 보다 많은 알칼로이드가 생합성 되어 있음을 시사해 주고있다. 특히 Com-

pound IV인 8-O-ethyl 14-benzoylmesaconine은 추출과정에서 생긴 화합물로서 Aconitum alkaloid 성분 연구에 있어 좋은 학문적 자료가 될 것으로 사료된다.

### 문 헌

- 1) 李昌福 : 大韓植物圖鑑, 鄉文社, 360 (1979).
- 2) 鄭台鉉 : 韓國植物圖鑑, 新志社, 116 (1957).
- 3) 陸昌洙 : 韓國藥品植物資源圖鑑, 進明出版社, 118 (1981).
- 4) 陸昌洙 : 原色韓國藥用植物圖鑑, 아카데미서적, 189 (1989).
- 5) 문교부 : 한국식물도감, 196 (1965).
- 6) 金一赫 外 : 藥品資源植物學, 東明社, 159 (1974).
- 7) 陸昌洙 外 : 韓藥學 II, 光明醫學社, 321 (1992).
- 8) Chen, Y., Chu, Y. L. and Chu, J. H. : Alkaloids of the chinese drug, *Aconitum* spp. IX Alkaloids from Chuan-Wu and Fu-TZu, *Aconitum carmichaeli*, *ACTA Pharmaceutica Sinica*, **12**(7) (1965).
- 9) Isawa, I. and Naruto, S. : Alkaloids from *Aconitum carmichaeli*, *Yakugaku Zasshi*, **86**, 585 (1966).
- 10) Takayama, H., Hasegawa, S. Sakai, S. I., Haginiwa, J. and Okamoto, T. : Structure Elucidation of a New Aconite, 15- $\alpha$ -Hydroxynoline, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3078 (1981).
- 11) Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Chen, Z. L. and Kobayashi K. : Four New Lipo-Alkaloids From Aconiti Tuber, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**(2), 758 (1982).
- 12) Konno, C. Shirasaka M. and Hikino H. : Structure Senbusine A, B and C, Diterpenic Alkaloids of *Aconitum carmichaeli* Roots from China, *Journal of Natural Products*, **45**(2), 128 (1982).
- 13) Pelletier, S. W., Mody, N. V. and Varughese, K. I. : Fuziline, A New Alkaloid From Chinese Drug "FUZI" (*Aconitum carmichaeli*), *Heterocycles*, **18**, 47 (1982).
- 14) Hikino, H., Kuroiwa, Y. and Konno, C. : Structure of Hokbusine A and B, Diterpenic Alkaloids of *Aconitum carmichaeli* Roots From Japan, *Journal of Natural Products*, **46**, 178 (1983).
- 15) Kitagawa, I., Chen, J. L., Yoshihara L. and Yoshikawa L. : Chemical studies on Crude Drug Processing. II. Aconiti tuber(1). On the Constituents of "Chuan-wu", the Dried Tuber

- of *Aconitum carmichaeli*, *Yakugaku Zasshi*, **104**, 848 (1984).
- 16) Kosuge, T. and Yokoda, M. : Studies on Cardiac Principle of Aconite Root, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 176 (1976).
  - 17) Sakai, S. I., Takayama, H. and Okamoto, T. : On the alkaloids of *Aconitum japonicum* collected at Mt. Takao (Tokyo), *Yakugaku Zasshi*, **99**, 647 (1979).
  - 18) Takayama, H., Hasegawa, S., Sakai, S., Hagiwara, J. and Okamoto T. : On the Alkaloids of *Aconitum japonicum* Collected at Mt. Mineoka (Chiba Pref.) : Structure Elucidation and Partial Synthesis of a New Alkaloid, 15- $\alpha$ -Hydroxyneoline, *Yakugaku Zasshi*, **102**, 525 (1982).
  - 19) Sakai, S. I., Yamaguchi, K., Yamamoto I. and Okamoto, T. : The Structure of Hypognavine, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4573 (1982)
  - 20) Sakai, S. I. Yamaguchi, K., Takayama, H., Yamamoto, I. and Okamoto T. : The Structure of A New Diterpene Alkaloid: Sanypnamine, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4576 (1982).
  - 21) Takayama, H., Hitotsuyanagi, Y., Yamaguchi, K., Aimi, N. and Sakai, S.I. : Two New Diterpene Alkaloids, 10-Hydroxyisotalatizidine and 10-Hydroxytalatizamine, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 548 (1989).
  - 22) Takayama, H., Hitotsuyanagi, Y., Yamaguchi, K., Aimi, N. and Sakai S. I. : On the Alkaloidal Constituents of *Aconitum sanyonense* var. *tonense*. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2927 (1992).
  - 23) Pelletier, S. W. and Mody, N. V. : The structure of Chaconitine and Isodelphinine From *Aconitum miyabei*. *Tetrahedron Letters*, **46**, 4027 (1977).
  - 24) Sakai, S. I., Shinma, N., Hasegawa, S. and Okamoto, T. : On the Alkaloids of *Aconitum gigas* and the Structure of a New Base, Gigatonine. *Yakugaku Zasshi*, **98**, 1376 (1978).
  - 25) Takayama, H., Tokida, T. Ito, M., Sakai, S. I., Kurosaki, K. and Okamoto, T. : On the Alkaloids *Aconitum yesonense*. *Yakugaku Zasshi*, **102**, 245 (1982).
  - 26) Yue, J. M., Chen, Y. Z. and Li, Y. Z. : C<sub>19</sub>-Diterpenoid Alkaloids of *Aconitum kongboense*. *Phytochemistry*, **29**, 2329 (1990).
  - 27) Yue, J. M., Jun, X. and Chen, Y. Z. : C<sub>19</sub>-Diterpenoid Alkaloids of *Aconitum kongboense*. *Phytochemistry*, **35**, 829 (1993).
  - 28) Sayed, H. M., Desai, H. K., Ross, S. A., Pelletier, S. W. and Aasen, A. J. : New Diterpenoid Alkaloids from the Roots of *Aconitum septentrionale*, Isolation by an Ion Exchange Method. *Journal of Natural Products*, **55**, 1595 (1992).
  - 29) Hanuman B. J. and Kazt, A. : Diterpenoid Alkaloids from Ayurvedic Processed and Unprocessed *Aconitum ferox*. *Phytochemistry* **36**, 1527 (1994).
  - 30) Pelletier, S. W., Mody, N. V., Joshi, B. S. and Schramm, L. C. : "in Alkaloids", *Chemical and Biological Perspective*, **2**, 210 (1984).
  - 31) Kurosaki, F., Yatsunami, T., Okamoto, T. and Ichinohe, Y. : Separation and Quantitative Analysis of Diterpene Alkaloids in Japanese Aconitum Roots, *Yakugaku Zasshi*, **98**, 1267 (1978).
  - 32) Hikino, H. : Analysis of Aconitine Alkaloids in Aconite Roots (part1), *Pharm. Tech. Japan* **4**, 551 (1988).
  - 33) Hikino, H., Konno, C., Watanabe, H. and shigawa, O. : Ditermination of Aconitine Alkaloids by High-Performance Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography*, **211**, 123 (1981).
  - 34) 中野 道晴, 山岸 喬 : 高速液體 クロマトグラフィーによる附子及び烏頭 中のアコニチン系アルカロイドの定量; 道衛研所報, 第32集, 21 (1982).
  - 35) Kitagawa, I. Chen, Z. L., Yoshihara M. and Yoshikawa M. : Chemical Studies on Crude Drug Processing. IV. Aconit Tuber (3). Quantitative Determination of Aconitine Alkaloids in Aconiti Tuber by Means of High Performance Liquid Chromatography. *Yakugaku Zasshi*, **104**, 867 (1984)
  - 36) Hikino, H., Murakami, M., Konno, C. and Watanabe, H. : Determination of *Aconitine Alkaloids* in Aconitum Roots. *Planta Medica*, **48**, 67 (1983).
  - 37) Hikino, H., Shiota, S., Takahachi, M. and Murakami, M. : Seasonal Dynamics of the Accumulation of Aconitine Alkaloids in *Aconitum*

- carmichaeli* Roots. *Shoyakugaku Zasshi*, **37**, 68 (1983).
- 38) Pelletier, S. W. : Alkaloids-Chemical and Biological Perspectives, Wiley Interscience, 2, p209 (1985).
- 39) Pelletier, S. W. and Djarmati : Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance, Aconotinetype Diterpenoid Alkaloids from *Aconitum and Delpiniium* Species, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 2626 (1976).
- 40) Sakai, S. I., Yamamoto, I., Hotoda, K., Yamaguchi, K., Aimi, N., Yamanaka, E., Haginiwa, J and Okamoto, T : On the Alkaloids of *Aconitum ibukiense* Collected at Mt. Ryosen. *Yakugaku Zasshi*, **104**, 222 (1984).
- 41) Pelletier, S. W., Srivastava, S. K. and Joshi, B. S. : Alkaloids of *Aconitum columbianum*. *Heterocycles*,