

가는줄돌쩌기 알칼로이드 성분의 분리 및 산화적 특성

허경희 · 이정규[#]
경성대학교 약학대학

Isolation and Oxidation Characteristics of Alkaloids of *Aconitum volubile*

Kyong Hee Heo and Chung Kyu Lee[#]

College of Pharmacy, Kyungseong University, Busan 608-736, Korea

Abstract – From the under ground part of *Aconitum volubile* Pall. (Ranunculaceae), seven nor- or di-terpenoid alkaloids were isolated and identified by NMR spectra and mass spectrum. The alkaloids were three C₁₉-norditerpenoid alkaloids such as isotalatizidine, altaconitine and vilmorrianine A, and four C₂₀-diterpenoid alkaloids such as 12-epidehydronapelline, 12-epinapelline, songoramine and songorine. Some of the isolated diterpenoid alkaloids were subjected to oxidation reaction with active MnO₂ and oxoammonium salt. The results were C-12 oxidation(ketone formation) and N-dealkylation in veatchin-type and decomposition to non-alkaloidal compounds in atisine-type ajaconine.

Key words – norditerpenoid alkaloid; diterpenoid alkaloid; isotalatizidine; altaconitine; vilmorrianine A; 12-epidehydronapelline; 12-epinapelline; songoramine; songorine; oxidation; active MnO₂, oxoammonium salt

가는줄돌쩌기(*Aconitum volubile* Pall., 미나리아재비과)는 우리나라 식물도감¹⁾에는 “*A. volubile* Koelle”로 수재되어 있으며, 우리나라의 경북 이북의 태백산맥을 따라 강원도, 함경도 지역과 만주, 몽골지역까지 분포하고 있다. 다른 돌쩌기류 또는 *Aconitum*속 식물과 비교하면 잎의 형태에 있어서 3 개로 갈라진 열편 중 양쪽 두 열편은 2 개로 완전히 갈라져서 잎 전체가 마치 5 개로 갈라지고 각 열편은 다시 우상(羽狀)으로 갈라져 최종 열편은 2~3 mm로서 뒷면, 특히 백 위에 긴 털이 많은 점이 특이하다. 이 식물은 우리나라와 부근 지역에 자생하는 *Aconitum* 속 식물 중 아직 성분연구가 미진하여 그 성분의 분리를 시도한바, C₁₉-norditerpenoid 알칼로이드로서 isotalatizidine, altaconitine 및 vilmorrianine A를, C₂₀-diterpenoid 알칼로이드로서 veatchine 형인 12-epidehydronapelline, 12-epinapelline, songoramine 및 songorine 등을 분리, 확인하였다.

노르디테르페노이드 알칼로이드류의 화학적 특성을 검토한 연구 보고를 보면, 탈산소반응(deoxygenation),²⁾ 아세틸화반응(acetylation),^{3,4)} 에스테르 및 에테르 형성⁵⁾ 등이 시도되었으나 그 구조적 특성으로 인하여 산화제를 이용한 산화물 생성에 관한 것이 많다. 산화제로는 삼산화크롬

(CrO₃)[사렛시약(Sarett's reagent)],⁴⁾ 사산화오스뮴(OsO₄),^{6,7)} 과망간산칼륨(KMnO₄)^{8,9)} 등이 사용되었다.

송 등¹⁰⁾은 노르디테르페노이드 알칼로이드의 산화반응 양식을 검토한 연구에서 이들 계열 화합물은 활성 이산화망간이나 옥소암모늄염에 의하여 아코니틴형의 탈알킬화, 라이코토닌형과 헤테라틴신형의 탈수소화 등의 산화반응이 진행된다고 보고한 바 있다.

디테르페노이드 알칼로이드류의 산화반응을 보면 Pelletier 등은 ‘active MnO₂’¹¹⁾에 의하여 -N-CH₂-CH₃가 iso-oxazolidine환의 구조로 변화되며,¹²⁾ 삼산화크롬(CrO₃)에 의하여 C-2 위치에서 탈수소(dehydrogenation) 반응이 일어나며,¹³⁾ 산화은(Ag₂O)에 의하여 -N-CH₂-CH₂OH가 oxazolidine 환의 구조로 산화적 폐환(oxidative cyclization)이 일어난다는 보고도 있다.¹⁴⁾

한편 분리된 디테르페노이드 알칼로이드의 veatchine 형의 산화반응 양식을 비교·검토하기 위하여 atisine 형인 ajaconine(*Delphinium elatum*에서 분리)¹⁵⁾의 산화반응도 시도하였다.

실험방법

성분 분리 – 이 연구에서 사용된 모든 nor- 및 di-

*교신저자(E-mail): cklee@ks.ac.kr
(051) 620-4880

terpenoid alkaloid는 몽골산 *Aconitum volubile* PALL(가는 줄들썩기, 미나리아재비과)의 지하부로부터 분리한 것이다. 즉 이 식물 2.7 kg(건조중량)으로부터 메탄올 추출물(502 g)을 얻고 이 메탄올 추출물을 감압액체크로마토그래피(vacuum liquid chromatography, VLC)법에 의하여 TLC 패턴이 같은 분획 25종(VLC-1~25, solvent system: hexanedichloromethanemethanol = 50-50-1 → 50-50-25)으로 나누고 이 분획 중 알칼로이드 성분을 다량 함유한 분획(VLC-7, 8, 13, 16 및 20)을 대상으로 다시 preparative TLC(adsorbent: alumina; developer: dichloromethane-1%-methanol) 및 원심력을 이용한 chromatotron 장치로 알칼로이드 성분을 분리하였다(solvent system: hexane-dichloromethane-methanol = 2-8-0.1).

화합물 I(isotalatizidine): 백색 분말(mp. 114~6°C), C₂₃H₃₇NO₅. ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 1.58~1.68 & 1.83~1.93(each 2H, *m*, H-6 deoxy-), 3.34(3H, *s*, H-16 OCH₃), 3.38(3H, *s*, H-18 OCH₃). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 13.1(N-CH₂-CH₃), 24.9(C-6), 26.8(C-12), 28.2(C-2), 29.7(C-3), 37.3(C-4), 39.8(C-10), 41.6(C-5), 42.3(C-15), 44.0(C-13), 45.1(C-7), 46.7(C-9), 48.5(C-11, N-CH₂-CH₃, overlapped), 56.3(C-16), 56.5(C-19), 59.5(C-18), 64.1(C-17), 72.3(C-1), 74.1(C-8), 75.9(C-14), 79.0(C-18), 81.8(C-16).

화합물 II(altaconitine): 백색 분말(mp. 235~7°C, 분해, C₂₃H₃₇NO₅). ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 1.14 (3H, *t*, *J* = 7 Hz, N-CH₂-CH₃), 1.43 (3H, *s*, 8-OCH₃), 3.23, 3.31, 3.34, 3.73 (each 3H, *s*, 4×OCH₃), 4.09 (1H, *d*, *J* = 5 Hz, C6β-H), 4.35 (1H, *d*, *J* = 3 Hz, C15β-H), 4.47 (1H, *dd*, *J*₁ = 6 Hz, *J*₂ = 3 Hz, C11-H), 4.89 (1H, *d*, *J* = 5 Hz, C14β-H), 7.44~7.59 (5H, *m*, Ar-H). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 12.1(N-CH₂-CH₃), 21.3(CO-CH₃, C-8), 38.2(C-12), 40.6(C-10), 43.9(C-4), 44.8(N-CH₂-CH₃), 45.0(C-7), 45.4(C-9), 45.7(C-5), 48.7(C-19), 52.5(C-11), 56.2(-OCH₃, C-01), 58.6(-OCH₃, C-06), 58.8(-OCH₃, C-18), 59.5(C-17), 61.1(-OCH₃, C-16), 65.3(C-2), 67.8(C-3), 71.7(C-18), 73.9(C-13), 77.5(C-15), 78.7(C-14), 82.5(C-6), 83.7(C-1), 90.2(C-16), 91.6(C-8), 128.6(benzoyl 3', 5'), 129.6(benzoyl 1'), 129.9(benzoyl 2', 6'), 133.4(benzoyl 4'), 166.1(benzoyl CO), 172.4(CO-CH₃, C-8). MALDI mass spectrum *m/z* 662[(M + H)⁺], altaconitine C₃₄H₄₇NO₁₂ = 661).

화합물 III(vilmorrianine A): 갈색 분말(mp. 179~181°C, C₃₅H₄₉NO₁₀). ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 1.10(3H, *t*, NCH₂-CH₃), 1.28(3H, *s*, OCOCH₃), 3.15, 3.25, 3.29 & 3.54(each 3H, *s*, OCH₃), 3.86(3H, *s*, aromatic OCH₃), 4.63 & 4.89(each 1H, *dd*, *J* = 6 & 4.5 Hz, H-6 및 H-14β), 6.90~8.07(aromatic proton). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 113.8(anisoyl-3,5), 13.3(N-CH₂-CH₃),

131.7(anisoyl-2,6), 163.4(anisoyl-4), 169.9(-CO-CH₃), 21.7(-CO-CH₃), 29.7(C-12), 33.5(C-2), 39.6(C-13), 39.6(C-15), 43.1(C-10), 43.1(C-4), 44.7(C-7), 47.4(C-5), 47.4(N-CH₂-CH₃), 48.6(C-9), 48.8(C-19), 50.2(C-11), 55.4(C-1'), 55.4(C-16'), 56.9(anisoyl-O-CH₃), 57.8(C-6'), 59.2(C-18'), 61.7(C-17), 71.7(C-3), 74.7(C-18), 77.0(C-14), 82.3(C-6), 83.1(C-16), 83.5(C-1), 85.6(C-8).

화합물 IV(12-epidehydronapelline): 옅은 갈색 분말(mp. 105~6°C, C₂₂H₃₁NO₃). ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 0.82(3H, *s*, H-18), 1.01(3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, N-CH₂-CH₃), 2.64 및 2.67(each 1H, *m*, *J* = 7.1 Hz, N-CH₂-CH₃), 2.73(1H, *d*, *J* = 1.7 Hz, H-20), 2.80(1H, *dd*, *J* = 8.7, 4.5, H-13), 3.69(1H, *br s*, H-19), 4.00(1H, *d*, *J* = 5.0 Hz, H-1β), 4.01~4.15(1H, *dd*, H-12 epimer), 4.14~4.18(1H, *dd*, *J* = 8.5, 4.0 Hz, H-12 α), 4.28(1H, *br s*, H-15 α), 5.40 & 5.21(each 1H, *br s*, H-17). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 14.2(N-CH₂-CH₃), 19.0(C-18), 23.9(C-6), 24.6(C-3), 29.8(C-2), 30.7(C-11), 31.7(C-14), 33.1(C-9), 37.7(C-4), 42.3(C-13), 45.8(C-7), 48.3(N-CH₂-CH₃), 48.7(C-5), 50.7(C-8), 52.0(C-10), 65.9(C-20), 67.3(C-12), 67.7(C-1), 77.4(C-15), 93.0(C-19), 111.5(C-17), 153.8(C-16).

화합물 V(12-epinapelline): 미황색 분말(mp. 71~74°C, C₂₂H₃₃NO₃). ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 0.82(3H, *s*, H-18), 1.01(3H, *t*, *J* = 7.1 Hz, N-CH₂-CH₃), 1.25(1H, *dd*, *J* = 12.1, 4.0 Hz, H_{eq}-14), 1.85(1H, *d*, *J* = 12.2 Hz, H_{ax}-14), 2.71 & 2.64(each 1H, *dd*, *J* = 11.8 Hz, H-19), 2.82(1H, *br s*, H-13), 3.59(1H, *br s*, H-20), 4.03(1H, *dd*, *J* = 8.6, 6.7 Hz, H-1), 4.16(1H, *dd*, *J* = 8.8, 4.8 Hz, 12-epimer), 4.28(1H, *br s*, H-15), 5.40 & 5.21(each 1H, *br s*, H-17). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 13.4(N-CH₂-CH₃), 23.6(C-6), 26.4(C-18), 29.7(C-2), 31.5(C-3), 32.6(C-11), 33.7(C-4), 35.9(C-14), 37.0(C-9), 43.7(C-7), 43.8(C-13), 48.4(C-5), 51.0(C-8 & N-CH₂-CH₃, overlapped), 52.5(C-10), 58.3(C-19), 66.3(C-1), 66.3(C-20), 69.8(C-12), 77.5(C-15), 111.4(C-17), 154.8(C-16).

화합물 VI(songoramine): 백색 분말(mp. 206~210.5°C, C₂₂H₂₉NO₃). ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 0.85(3H, *s*, H-18), 1.03(3H, *t*, *J* = 7.0 Hz, N-CH₂-CH₃), 3.71(1H, *s*, H-19β), 4.00 (1H, *d*, *J* = 5.0 Hz) & 3.71(1H, *s*, β-conformation, C-1 & C-19 epoxide), 4.00(1H, *d*, *J* = 5.0 Hz, H-1β), 4.41(1H, *w*, H-15 α), 5.31~5.21(2H, *m*, H-17). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 14.3(N-CH₂-CH₃), 18.9(C-18), 24.0(C-6), 24.3(C-3), 29.7(C-2), 31.4(C-11), 31.9(C-9), 37.4(C-14), 37.8(C-4), 45.9(C-7), 48.3(N-CH₂-CH₃), 48.4(C-5), 50.2(C-8), 51.8(C-10), 53.0(C-13), 66.1(C-20), 67.7(C-1), 77.0(C-15), 92.9(C-19), 111.9(C-17), 149.5(C-16), 208.7(C-12).

화합물 VIII(songorine): 미백색 분말(mp. 240~4°C, dec., C₂₂H₃₃NO₃). ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ0.79(3H, s, H-18), 1.12(3H, t, J = 7.1 Hz, N-CH₂-CH₃), 2.58(2H, br s, H-19), 2.62 & 2.58(each 1H, q, J = 7.1 Hz, N-CH₂CH₃), 3.38(2H, dd, J = 8.7, 4.5 Hz, H-13), 3.86(1H, q, H-1), 4.37(1H, s, H-15 α), 5.32~5.21(2H, m, H-17). ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ13.2(N-CH₂-CH₃), 23.2(C-6), 26.0(C-18), 31.6(C-2), 31.8(C-3), 34.3(C-4), 35.4(C-9), 37.3(C-11), 38.1(C-14), 43.5(C-7), 48.9(C-5), 49.9(C-8), 51.4(N-CH₂-CH₃), 52.5(C-10), 53.8(C-13), 57.3(C-19), 65.9(C-20), 70.1(C-1), 77.2(C-15), 111.6(C-17), 150.9(C-16), 209.6(C-12).

활성 이산화망간(Active MnO₂) – Attenburrow¹¹⁾의 방법에 따라 과망간산칼륨(KMnO₄)으로부터 제조하였다(제법: 참고문헌 10).

옥소 암모늄염(Oxoammonium Salt) – Bobbitt¹⁶⁾에 의해 합성된 4-acetylamino-2,2,6,6-tetramethyl-piperidine-1-oxoammonium perchlorate를 분양받아 사용하였다(구조: 참고문헌 10).

기타 시약 및 기기 – 추출용 및 성분 분리용 시약은 실험목적에 맞는 1급(E. P.) 이상의 제품을 사용하였다.

용점은 Thomas-Koffler의 hot stage melting point determination apparatus를 사용하고 보정하지 않았다.

NMR 스펙트럼 측정을 위한 시료는 모두 CDCl₃에 녹여 Bruker AMX400 spectrometer (400.13 MHz)로 기록하였으며, Mass 스펙트럼은 VG Zap Spec instrument로 기록하였다.

Vacuum liquid chromatography(VLC)에는 Ace Glass에서 제작한 column(ASTM, 10-20 μ)을 사용하였으며, silica gel은 Kieselgel 60 F₂₅₄(230~400 mesh, ASTM, Art. 9385)를 사용했다.

High performance centrifugal partition chromatography 기기로는 Harrison Research의 Chromatotron(model HR5012)을 사용하였다.

TLC 및 prep-TLC – 확인용 TLC 플레이트는 실리카 겔 플레이트(Kieselgel 60F₂₅₄, 1 mm, 20×20 cm, E. Merck)를, Prep-TLC용 플레이트는 실리카 겔 플레이트(Kieselgel 60F₂₅₄, 0.25 mm, E. Merck)를 사용하였으며, 전개용매는 디테르펜 알칼로이드의 분리에 효과적인 toluene-acetone-methanol-ammonia water(= 247.5-207.5-25-20, upper phase)를 주로 사용하였다. 알칼로이드의 확인 발색시약은 Dragendorff 시약을 이용하였고, 기타 성분 확인은 바닐린-황산 시약을 사용하였다.

결과 및 고찰

노르디테르페노이드 및 디테르페노이드 알칼로이드는 그

구조적 특성으로 인하여 ¹³C-NMR 스펙트럼과 X-선 분광법으로 확인할 수 있다.¹⁷⁻²³⁾ 예를 들면 아코니틴의 경우, ¹³C-NMR 스펙트럼이 보여주는 여러 가지 특징은 이전의 기법으로 밝혀진 구조적 특징을 여실히 나타내며, 특히 이후의 발달된 ¹H-¹H correlated spectroscopy(COSY), two-dimensional-nuclear Overhauser effect(2D-NOE) 기법에 의한 메톡실기 수소(methoxyl proton)의 확인 결과와 잘 부합된다.¹⁹⁾ 따라서 구조상 특별히 확인해야 할 사항이 없는 경우, ¹³C-NMR 스펙트럼으로 충분히 확인할 수 있으므로 본 연구에서는 디테르페노이드 알칼로이드의 화학적인 변화와 이들 알칼로이드의 산화제로 활용할 수 있는 물질의 작용을 비교하기 위하여 ¹³C-NMR 및 ¹H-NMR 스펙트럼의 특징을 비교하였다. 또한 필요한 경우 mass spectrum을 측정하였다.

가는줄돌쩌기 지하부로부터 얻은 메탄올 추출물을 vacuum liquid chromatography(VLC) 기법으로 얻은 25종의 분획(VLC-1~25) 중 알칼로이드 성분이 다량 함유된 분획을 대상으로 prep-TLC 및 chromatotron을 이용한 분리 결과 다음과 같은 성분을 분리·정제하였다.

VLC-7(화합물 II, IV, VI), VLC-8(화합물 IV, VI, VII), VLC-13(화합물 I, IV, V) 및 (VLC-16: 화합물 III, VI).

화합물 I은 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 81.8 및 79. ppm에 나타난 두개의 피크는 각각 C-16 및 C-18의 methoxyl기를 의미하며, 72.3, 74.1 및 75.9 ppm의 세 피크는 각각 C-1, C-8 및 C-14의 hydroxyl기를 의미하며 문헌치²⁴⁾와 잘 부합되었다. 한편 ¹H-NMR 스펙트럼을 검토하면, 1.58~1.68 ppm에서의 multiplet과 1.83~1.93 ppm의 multiplet은 C-6의 deoxy 형태를 의미하고 3.34 및 3.38 ppm의 두 singlet은 C-16과 C-18의 methoxy기의 존재를 의미한다. 또한 mass spectrum에서도 isotalatizidine (C₂₃H₃₇NO₅=407)에 상응하는 m/z 408 [(M+H)⁺]의 피크가 나타났으며, m/z 390 [(M-OH)⁺]의 피크도 확인되었다.

화합물 II는 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 166.1~128.7 ppm의 시그널이 benzoyl 그룹의 존재를 의미하는 등 mesaconitine과 유사한 패턴을 보였으나, 12 및 42 ppm 부근의 피크를 검토해 보면 이 화합물은 N-CH₃의 구조가 아니라 N-CH₂CH₃의 구조임을 알 수 있고, 또 Matrix assisted laser desorption/ionization(MALDI) 질량분석에 의하여 m/z 662[(M+H)⁺]로 나타나므로 altaconitine(C₃₄H₄₇NO₁₂ = 661)에 해당되며 mesaconitine (C₃₃H₄₅NO₁₁ = 631)과는 부합되지 않음을 알 수 있다. 이것은 ¹H-NMR 스펙트럼에서도 확인되었다. 즉 δ 1.14 (3H, t, J = 7 Hz, N-CH₂-CH₃), 1.43 (3H, s, 8-OCOCH₃), 3.23, 3.31, 3.34, 3.73 (each 3H, s, 4×OCH₃), 4.09 (1H, d, J = 5 Hz, C6β-H), 4.35 (1H, d, J = 3 Hz, C15β-H), 4.47 (1H, dd, J₁ = 6 Hz, J₂ = 3 Hz, C11-H), 4.89 (1H, d, J = 5 Hz, C14β-H), 7.44~7.59 (5H,

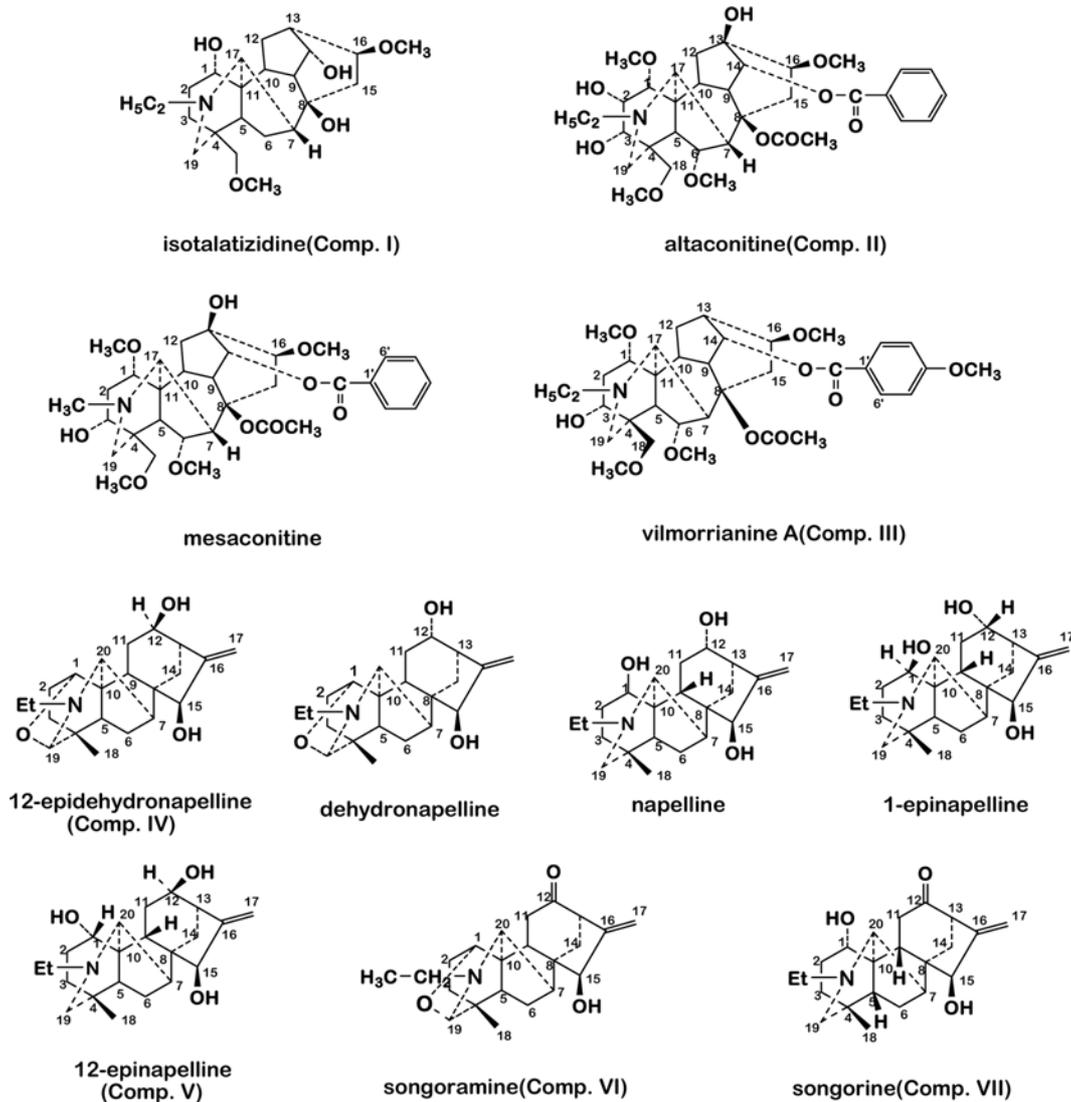


Fig. 1. Structures of isolated and related compounds.

m, *Ar-H*) 등에서 나타나는 제반 피크를 검토할 때 이 화합물은 altaconitine임을 알 수 있다.^{25,26)}

화합물 III은 ¹H-NMR의 δ 4.63 및 4.89에서 각각 *J* = 6 및 4.5 Hz의 doublet 및 doublet-doublet으로 나타난 peak는 C-6 및 C-14의 수소가 β-configuration으로 존재함을 의미하고 그 외 δ 6.90~8.07 사이의 peak들은 aromatic proton을 의미한다. 또한 δ 3.86의 singlet (3H, aromatic OCH₃), δ 3.15, 3.25, 3.29 및 3.54의 singlet (각각 3H, OCH₃), δ 1.28의 singlet (3H, OCOCH₃), 및 δ 1.10의 triplet (3H, NCH₂-CH₃) 등을 확인할 수 있다. 또 ¹³C-NMR 스펙트럼에 나타난 바에 의하면, δ 113.8~163.4의 peak들의 존재가 특이하다. 이들은 proton NMR 스펙트럼의 결과와 더불어 C₁₉-norditerpene alkaloid에서 benzoyl기의 존재와 함께 δ 57.8에서의 methoxy1기의 존재까지 고려하면 이것은 *p*-

methoxybenzoyl (*p*-anisyl)을 의미한다. 따라서 이 범위의 나머지 peak들은 aromatic carbon에 해당한다. 그 외 δ 169.9에서 acetyl기의 -CO를 확인할 수 있고 δ 47.4 및 13.3에서는 *N*-CH₂CH₃의 두 탄소 가 나타나 있다. 이상과 같은 특징들을 종합해 보면 이 화합물은 문헌²⁷⁾에 보고된 바의 vilmorrianine A와 잘 부합된다.

화합물 IV는 ¹H-NMR 스펙트럼에서 4.01~4.15 ppm에서 C₂₀-디테르페노이드 알칼로이드의 C-12 epimer를 의미하는 doublet-doublet 피크가 특징으로, C₂₀-디테르페노이드 알칼로이드의 C-1은 ¹³C-NMR 스펙트럼에서 dehydro-체일 경우 δ 60~70의 범위에서 shift하며, dehydro-체가 아닐 경우 δ 70 이상의 범위에서 shift하므로 δ 67.29의 시그널은 이 화합물의 C-1 dehydro-체임을 알 수 있다. 이상과 같이 스펙트럼상의 특징은 문헌²⁸⁾ 상의 12-epidehydronapelline과 부합

되며 1-epidehydronapelline 또는 dehydronapelline과는 차이가 있음을 알 수 있다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼 상의 특이한 점은 δ 4.00의 doublet(1H, $J = 5.0$ Hz)으로 이것은 C-1에 β -configuration을 의미하며, δ 4.14~4.18의 doublet-doublet(1H, $J = 8.5, 4.0$ Hz)은 H-12 α , 즉 C₂₀-diterpene 알칼로이드에서 12-번 위치의 epimer를 의미한다. 또 δ 4.28의 broad singlet(1H)은 C-15의 α -configuration 상태를 의미한다. 그 외 δ 5.40 및 5.21(각각 1H, br s, H-17), δ 3.69(1H, br s, H-19), δ 2.80(1H, dd, $J = 8.7, 4.5$, H-13), δ 2.73(1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-20), δ 2.64 및 2.67(각각 1H, m, $J = 7.1$ Hz, $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$), 및 δ 1.01(3H, t, $J = 7.0$ Hz, $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$), 0.82(3H, s, H-18) 등을 확인할 수 있었다. 이상과 같은 스펙트럼 상의 특징을 종합하여 본 화합물을 12-epidehydronapelline로 동정하였다.

화합물 V는 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에 의하면 δ 4.16에서 C-12의 H가 double-doublet (1H, $J = 8.8, 4.8$ Hz)으로, δ 4.03에서 C-1의 H가 역시 double-doublet (1H, $J = 8.6, 6.7$ Hz)으로 나타남으로써 이물질은 1-epimer (δ 3.89, 1H, dd, $J = 9.9/6.3$ Hz 및 δ 3.52, 1H, dd, $J = 9.5, 7.0$ Hz)²⁹)와는 차이가 있음을 알 수 있다. 또한 δ 1.85(1H, d, $J = 12.2$ Hz)와 δ 1.25(1H, dd, $J = 12.1, 4.0$ Hz)의 피크들은 C-14의 두 프로톤이 각각 axial 및 equatorial 상태임을 의미한다. 그 외 δ 5.40 및 5.21(각각 1H, br s, H-17), δ 4.28(1H, br s, H-15), δ 3.59(1H, br s, H-20), δ 2.82(1H, br s, H-13), δ 2.71 및 2.64(각각 1H, dd, $J = 11.8$ Hz, H-19), δ 1.01(3H, t, $J = 7.1$ Hz, $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$) 및 δ 0.82(3H, s, H-18) 등을 확인할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 δ 69.78에서 C-12가, δ 66.32에서 C-1이 나타난 것으로 보아 역시 1-epimer

(δ 77.0, C-1; δ 76.7, C-12)²⁹)라기 보다 12-epimer 쪽이 합당하다. 또한 MALDI mass 스펙트럼을 보면 m/z 360[(M + H)⁺]의 피크가 뚜렷하여 이 물질을 12-epinapelline(C₂₂H₃₃NO₃ = 359)³⁰)으로 동정하였다.

화합물 VI는 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 208.8 및 δ 149.5에서 특징적인 피크들이 나타나는데 이들은 C₂₀-디테르페노이드 알칼로이드에서 각각 12번 탄소(C-12)의 카보닐(carbonyl) 그룹과 16번 탄소(C-16)의 비닐(=CH₂) proton의 존재를 의미한다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 특징적인 것은 δ 4.00의 doublet($J = 5.0$ Hz)과 δ 3.71에서의 singlet으로, 이는 C-1과 C-19가 epoxide 형태이며, 프로톤은 β -conformation으로 존재함을 의미한다. 그 외 δ 5.31~5.21(2H, m, H-17), δ 4.41(1H, w, H-15 α), δ 4.00(1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-1 β), δ 3.71(1H, s, H-19 β), δ 1.03(3H, t, $J = 7.0$ Hz, $N\text{-CH}_2\text{-CH}_3$) 및 δ 0.85(3H, s, H-18) 등을 확인할 수 있었다. 이상과 같은 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼 패턴과 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼의 특징을 고려할 때 이 화합물은 *A. napellus* 등에서 분리된 songoramine과 부합하였다.³¹⁾

화합물 VII은 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼 상에서 C-1과 C-15에 각각 -OH의 존재를 의미하는 피크가 δ 70.1 및 δ 77.2에서 나타나는 등 문헌³²⁾에 보고된 songorine과 잘 부합되었다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서는 우선 디테르페노이드 알칼로이드의 경우 δ 4.00~4.20 ppm 부근에서 피크가 전혀 보이지 않음은 C-12가 카보닐 형태임을 의미한다. 그 외 δ 5.32~5.21(2H, m, H-17), δ 4.37(1H, s, H-15 α), δ 3.86(1H, q, H-1), δ 3.38(2H, dd, $J = 8.7, 4.5$ Hz, H-13), δ 2.62 및 2.58(각각 1H, q, $J = 7.1$ Hz, $N\text{-CH}_2\text{CH}_3$), δ 2.58(2H, br s, H-19), δ 1.12(3H, t, $J = 7.1$ Hz, $N\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 그리고 δ

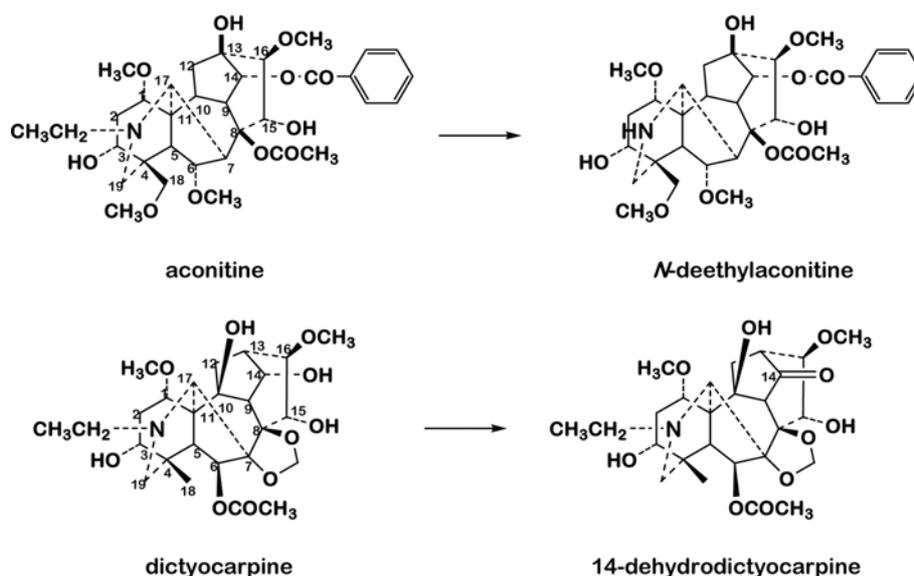


Fig. 2. Dealkylation and dehydrogenation of aconitine-type alkaloids.

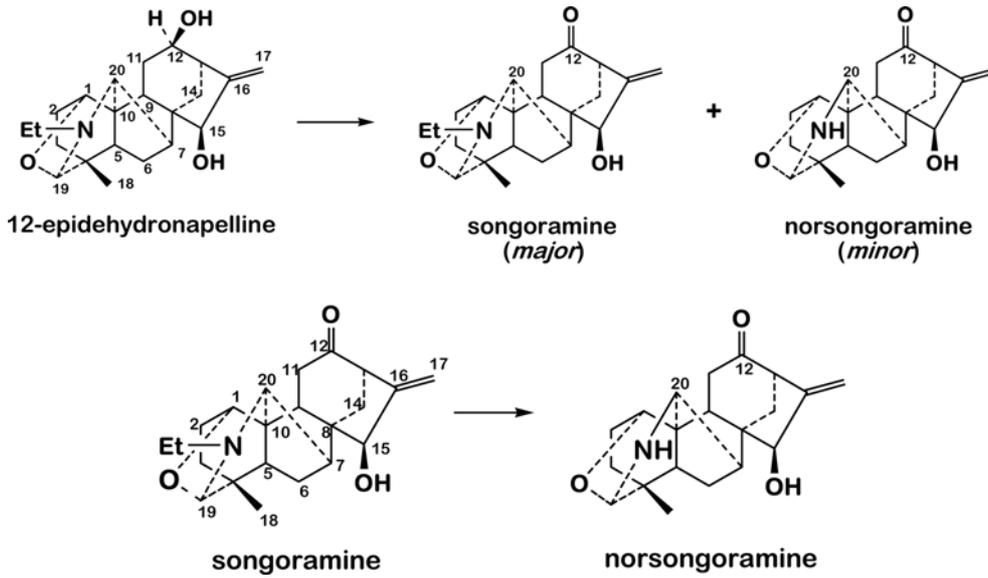


Fig. 3. Dehydrogenation of veatchine-type alkaloids.

0.79(3H, s, H-18) 등을 각각 확인할 수 있었다. MALDI 메스 스펙트럼에서는 m/z 358 $[(M + H)^+]$ 의 피크가 뚜렷하게 관찰되어 이 화합물은 songorine($C_{22}H_{31}NO_3 = 357$)임이 확인되었다.

산화반응 양식 - 송 등¹⁰⁾에 의하면 노르디테르페노이드 알칼로이드의 경우 아코니틴(aconitine)형은 탈알킬화(dealkylation)를, 라이코토닌(lycoctonine)형과 헤테라틴신형(heteratisine)은 탈수소화(dehydration) 반응을 보인다(Fig. 2).

Veatchine 형 디테르페노이드 알칼로이드의 산화 - 12-epidehydronapelline(화합물 IV, 100 mg)에 2배당량의 옥소암모늄염과 100 mg의 실리카겔을 첨가하여 18 시간 반응시켰더니 2 개의 주생성물과 3 개의 소량 생성물이 TLC로 확인되었다. 반응생성물은 prep-TLC에 의해 주생성물(화합물 VIII, 10 mg 및 화합물 VIII', 극소량)을 분리하고 이중 주생성물인 화합물 VIII은 ¹H- 및 ¹³C-NMR 스펙트럼으로 검토하였다. ¹H-NMR에서 δ 4.21의 doublet($J = 5.0$ Hz)과 δ 4.15의 singlet은 C-1 및 C-19가 epoxide 형태이며, 프로톤은 β -conformation임을 의미하며, δ 5.33의 multiplet은 H-17(reference: 5.34~5.21)을, δ 3.91의 doublet은 H-1 β (reference: 3.99)을, δ 3.88의 singlet은 H-19 β (reference: 3.72)를, δ 1.03의 triplet($J = 7.0$ Hz)은 N-CH₂-CH₃(reference: 1.03)를, 그리고 δ 0.77의 singlet은 H-18(reference: 0.84)을 각각 의미한다. 또한 ¹³C-NMR에서도 C-12(δ 208.8)의 -OH가 carbonyl로 산화된 형태를 보여주는 등, 제반 스펙트럼의 데이터에서 이 물질은 songoramine으로 밝혀졌고 이들 데이터는 문헌치³¹⁾와 잘 부합하였다(Fig. 3, 위). 또한 *A. volubile*에서 직접 분리한 songoramine(mp. 206~210.5°C)과 혼용실험을 한 결과 동일 성분임이 확인되었다. 극소량의 화합물 IV'

은 co-TLC로 norsongoramine과 일치한다는 것만을 알 수 있었다. ¹³C-NMR(400 MHz, CDCl₃): δ 14.3(reference, 14.4, N-CH₂-CH₃), 18.9(19.0, C-18), 24.0(24.1, C-6), 24.3(67.9, C-3), 29.7(48.7, C-2), 31.2(31.4, C-11), 31.3(31.6, C-9), 37.4(37.5, C-14), 37.8(29.9, C-4), 46.0(46.1, C-7), 48.3(48.5, N-CH₂-CH₃), 48.4(24.4, C-5), 50.1(50.4, C-8), 51.7(51.9, C-10), 53.0(53.3, C-13), 66.1(66.4, C-20), 67.7(67.9, C-1), 77.0(77.1, C-15), 92.9(93.1, C-19), 112.0(111.9, C-17), 149.6(149.9, C-16), 208.8(209.0, C-12).

12-Epidehydronapelline의 산화생성물이 songoramine임을 알았으므로, songoramine을 다시 같은 방법으로 산화시킬 경우 생성될 수 있는 물질의 형태를 알아보기 위하여 화합물 VI(songoramine, 100 mg)에 2배당량의 옥소암모늄염과 100 mg의 실리카겔을 첨가하여 36 시간 반응시켰더니 1개의 주생성물과 2~3 개의 부산물이 생성되었다. 이중 prep-TLC에 의해 주생성물(Compound VI, 27 mg)를 분리하였는데 앞에서 12-epidehydronapelline의 산화반응 생성물이 songoramine과 norsongoramine으로 확인되었기 때문에

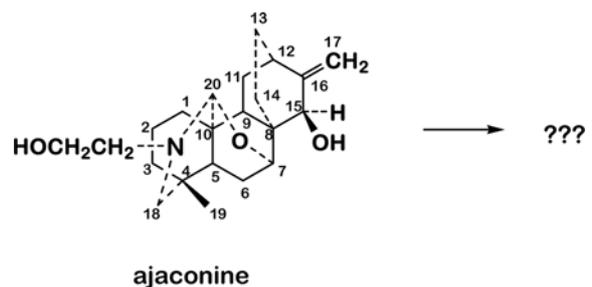


Table I. Summary of the oxidation characteristics of diterpenoid alkaloids.

| Alkaloids reacted | | by Active MnO ₂ * | by Oxoammonium Salt** |
|-------------------|------------------------|---|--|
| Veatchine-type | 12-Epidehydronapelline | C-12 oxidation and dealkylation (Songoramine & Norsongoramine) | C-12 oxidation and delkylation (Songoramine & Norsongoramine) |
| | Songoramine | Dealkylation (Norsongoramine) | Dealkylation (Norsongoramine) |
| Atisine-type | Ajaconine [#] | 4 traces | |

*Prepared with commercial manganese dioxide according to the method of Attenburrow, *et al.* [*J. Chem. Soc.*, 1094(1952), see Reference 11].

4-Acetylamino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxoammonium perchlorate, which was synthesized by Bobbitt [*J. Org. Chem.*, **63, 9367~74.(1998), see Reference 16].

[#]Reference 15.

norsongoramine의 표준품과 co-TLC로 확인해 보았다. 그 결과 songoramine의 산화반응 생성물은 norsongoramine임이 확인되었다.

즉 veatchin형 알칼로이드 12-epidehydronapelline은 oxoammonium 염으로 산화시키면 songoramine을 거쳐 최종적으로 norsongoramine이 생성되는 탈수산화(dehydroxylation) 및 탈알킬(dealkylation) 반응이 일어남을 알 수 있다(Fig. 3, 아래).

Atisine형 디테르페노이드 알칼로이드의 산화 - Ajaconine(100 mg)에 MnO₂(80 mg)를 가하고 24 시간 가열한 후 TLC로 확인한 결과 극소량의 몇몇 알칼로이드 spot이 보였으나, 구조를 확인 할 정도의 양이 못되었고 대부분은 비알칼로이드 성분으로 분해됨이 확인되었다.

이상의 실험 결과를 요약하면 표 I과 같다.

결 론

가는줄돌쩌기(*Aconitum volubile* Pall., Ranunculaceae)의 지하부로부터 알칼로이드 성분을 분리한 결과, C₁₉-노르디테르페노이드류인 isotalatizidine, altaconitine 및 vilmorrianine A를, C₂₀-디테르페노이드류인 12-epidehydronapelline, 12-epinapelline, songoramine 및 songorine 등을 분리하여 NMR 스펙트럼, 질량분석 등을 통하여 확인하였다. 이들 알칼로이드류는 *A. carmichaeli* 등 부자류 알칼로이드와는 다른 형태의 화합물로서 부자류의 대응 자원이 될 수 없었다.

분리한 성분 중 디테르페노이드 알칼로이드의 산화제(활성 MnO₂ 및 옥소암모늄염)에 의한 산화적 특성을 검토한 결과 veatchine형인 12-epidehydronapelline과 songoramine은 C-12 위치의 산화 및 N-탈알킬화가 일어남을 확인하였고, atisine형인 ajaconine은 비알칼로이드 화합물로 분해됨을 확인하였다.

사 사

이 논문은 2006학년도 경성대학교 학술연구비지원에 의

하여 연구되었음

인용문헌

1. 이창복(1982): 『대한식물도감』, 향문사, 서울, p. 562.
2. Kulanthaivel, P. and Pelletier, S. W.(1987): Deoxygenation reactions of C₁₉-diterpenoid alkaloids, *Tetrahedron Letters*, **28**(34), 3883~86.
3. Glinski, J. A., Joshi, B. S., Jiang, Q. P. and Pelletier, S. W.(1988): Hetsine derivatives, Part 1: Acetylation and oxidation of hetsine, *Heterocycles*, **27**(1), 185~193.
4. Ross, S. A. and Pelletier, S. W.(1988): New synthetic esters of delphisine and neoline, *Heterocycles*, **27**(6), 1381~90.
5. Pelletier, S. W. and Ross, S. A.(1990): Synthetic esters and ethers of delphinine and lycoctonine, *Heterocycles*, **31**(4), 671~675.
6. Pelletier, S. W., Desai, H. K., Finer-Moore, J. and Mody, N. V.(1982): An unusual oxidation of an N-CH₃ group to an N-CHO group by osmium tetroxide, *Tetrahedron Letters*, **23**(41), 4229~32.
7. Desai, H. K., Chokshi, H. P. and Pelletier, S. W.(1989): Oxidation of norditerpenoid alkaloids with osmium tetroxide, *J. Nat. Prod.*, **52**(6), 1296~1302.
8. Pelletier, S. W., Glinski, J. A. and Mody, N. V.(1982): Origin of oxonitine: A potassium permanganate oxidation product of aconitine, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 4676~77.
9. Gao, L., Zheng, S. Hao, X., Wang, X. and Shen, X.(1997): Preparation of imine alkaloids from norditerpenoid alkaloids, *Ind. J. Chem.*, **36B**, 682~684.
10. Song, I. S., Kim, H., Heo, K. H. and Lee, C. K.(2006): Oxidative characteristics of norditerpenoid alkaloids, *Kor. J. Pharmacogn.*, **37**(1), 60~66.
11. Attenburrow, J., Cameron, A. F. B., Chapman, J. H., Evans, R. M., Hems, B. A., Jansen, A. B. A. and Walker, T.(1952): A synthesis of vitamin A from cyclohexanone, *J. Chem. Soc.*, **1952**, 1094.
12. Pelletier, S. W., Mody, N. V. and Bhattacharyya, J.(1978): Active manganese dioxide: A reagent for constructing the

- oxazolidine ring of C₂₀-diterpenoid alkaloids, *Tetrahed. Lett.*, **52**, 5187~88.
13. Glinski, J. A., Joshi, B. S., Jiang, Q. P. and Pelletier, S. W.(1988): Hetsisine derivatives, Part I: Acetylation and oxidation of hetsisine, *Heterocycles*, **27**(1), 185~193.
 14. Pelletier, S. W., Ateya, A.-M. M., Mody, N. V. and Schramm, L. C.(1980): Formation of oxazolidine ring in C₂₀-diterpenoid alkaloids by oxidative cyclization with silver oxide, *Heterocycles*, **14**(8), 1155~57.
 15. Pelletier, S. W., Ross, S. A. and Desai, H. K.(1990): A norterpene alkaloid from *Delphinium elatum*, *Phytochemistry*, **29**(7), 2381~83.
 16. Bobbitt, J. M.(1998): Oxoammonium Salts. 6. 4-Acetylamino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxoammonium perchlorate: A stable and convenient reagent for the oxidation of alcohols. Silica gel catalysis, *J. Org. Chem.*, **63** (25), 9367~74.
 17. Pelletier, S. W. and Djarmati, Z.(1976): Carbon-13 Nuclear magnetic resonance: Aconitine-type diterpenoid alkaloids from *Aconitum* and *Delphinium* species, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 2626~36.
 18. Pelletier, S. W., Mody, N. V., Sawhney, R. S. and Bhattacharyya, J.(1977): Application of Carbon-13 NMR spectroscopy to the structural elucidation of C₁₉-diterpenoid alkaloids from *Aconitum* and *Delphinium* species, *Heterocycles*, **7**(1), 327~339.
 19. Pelletier, S. W., Mody, N. V. and Sawhney, R. S.(1979): ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of some C₁₉-diterpenoid alkaloids and their derivatives, *Can. J. Chem.*, **57**, 1652~55.
 20. Pelletier, S. W., Mody, N. V. and Dailey, O.(1980): ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy of methylenedioxy group-containing C₁₉-diterpenoid alkaloids and their derivatives, *Can. J. Chem.*, **58**, 1875~79.
 21. Pelletier, S. W., Mody, N. V., Joshi, B. S. and Schramm, L. C.(1984): ¹³C and proton NMR shift assignment and physical constants of C₁₉-diterpene alkaloids, pp. 205~213, *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, vol. 2, Wiley-Science, New York, U. S. A.
 22. Joshi, B. S., Wunderlich, J. K. and Pelletier, S. W.(1987): ¹³C Nuclear magnetic resonance spectroscopy in the elucidation of structures of diterpene alkaloids, *Can. J. Chem.*, **65**, 99~103.
 23. Desai, H. K. and Pelletier, S. W.(1993): ¹³C-NMR assignment for lactone-type norditerpenoid alkaloids, *J. Nat. Prod.*, **56**(2), 2193~97.
 24. Pelletier, S. W., Mody, N. V., Venkov, A. P. and Jones, Jr., S. B.(1979): Alkaloids of *Delphinium virescens* Nutt.: virescine and 14-acetylvirescine, *Heterocycles*, **12**(6), 779~782.
 25. Batbayar, N., Batsuren, D., Tashkhodzhaev, B., Yusupova, I. M. and Sultankhodzhaev(1993): Alkaloids of the Mongolian Flora III. Altaconitine - A new alkaloid from *Aconitum altaicum*, translated from Khim. Priir. Soedin., No. 1, 47~53, Plenum Publishing Co.
 26. Atta-ur-Rahman(1990): *Handbook of Natural Products Data*, Vol. 1. Diterpenoids and Steroidal Alkaloids, Elsevier, New York, p. 99.
 27. Takayama, H. Ito, M., Koga, M. and Sakai, S.(1981) Structure of zochasmanine, ezochasmaconitine, anisoezochasmanitine and synthesis of vilmorrianine A, *Heterocycles*, **15**: 403-408.
 28. Atta-ur-Rahman(1990): *Handbook of Natural Products Data*, Vol. 1. Diterpenoids and Steroidal Alkaloids, Elsevier, New York, p. 308.
 29. *Ibid.*, p. 311.
 30. *Ibid.*, p. 312.
 31. *Ibid.*, p. 306.
 32. *Ibid.*, p. 309.

(2008년 5월 14일 접수)