

경포부자의 다이테르펜 알칼로이드 성분

최상진 · 권학철 · 민용득 · 이성욱 · 김경란 · 최상운¹ · 손건호² · 감삼식³ · 이강노[#]

성균관대학교 약학대학 천연물 약품화학연구실, ¹한국화학연구소,
²안동대학교 식품영양학과, ³서울대학교 천연물과학 연구소

Diterpene Alkaloids from Kyong-Po Buja (Processed *Aconitium carmichaeli*)

Sang Zin Choi, Hak Cheol Kwon, Yong Deak Min, Sung Ok Lee, Kyung Ran Kim,
Sang Un Choi¹, Kun Ho Son², Sam Sik Kang³, and Kang Ro Lee[#]

College of Pharmacy, SungKyunKwan University, Suwon, ¹Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon,
²An dong National University, ³Institute of Natural Products, Seoul National University, Seoul, Korea

Abstract – Three diterpene alkaloids, songorine (1), neoline (2), N-deethylneoline (3), were isolated from Kyong-Po Buja (Processed *Aconitium carmichaeli*, Ranunculaceae) which was used as Chinese traditional medicine with analgesic, anti-inflammatory and cardiotoxic activity. Their structures were established by chemical and spectroscopic methods.

Keywords – Kyong-Po Buja, Processed *Aconitium carmichaeli*, Ranunculaceae, Diterpene alkaloids, songorine, neoline, N-deethylneoline

부자 (*Aconiti tuber*)는 중국원산인 *Aconitum carmichaeli* Debeaux (*Ranunculaceae*, 미나리아재비과) 및 그 동속 식물의 괴근으로서 예로부터 한방에서 강심, 이뇨 및 진통제 등으로 널리 쓰여온 생약이다.¹⁾ *Aconitum*속 식물의 맹독성을 일으키는 주성분은 aconitine, hypaconitine, mesaconitine 등의 diterpene alkaloid로 이들은 열과 알칼리에 의하여 deacetylation, debenzoylation, oxidation 등의 반응이 일어나 독성이 낮은 benzoylaconine계, aconine계 및 pyroaconine계 등으로 변화됨이 보고되고 있다.²⁾ 따라서 *Aconitum*속 식물의 근경을 자연 건조하여 그대로 사용하기보다는 예로부터 장시간 염수에 침적하거나, 가열 처리하는 등의 수처리 과정을 거쳐 독성을 감소시킨 염부자 또는 포부자 등이 약용으로 사용되어 오고 있다. 부자의 약효본체가 diterpene alkaloid임을 생각할 때 수치의 과정을 거친 후 생성되는 변화물질을 연구하는 것은 가치있는 일이고, 따라서 본 연구에서는 수치과정을 거친 부자 중 하나인 경포부자의 화학적 성분 연구를 실시하였다. 즉, 건조된 경포부자를 용매 분획 후 반복적인 칼럼 크로마토그래피를 통하여 3종의 화합물을 분리, 정제하여 분리된 화합물들의 이화학적 성상 및 기기분

석 자료를 통해 그 구조를 규명하였다. 현재까지 가공부자의 주성분으로 여겨왔던 benzoylaconine은 본 시료에서는 분리되지 않았다. 임상에 적용되는 가공부자등에 대하여 정확한 지표성분에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

재료 및 방법

실험재료 – 경포부자 (Kyong-Po Buja, processed *Aconitum carmichaeli*)는 2001년에 경동시장에서 유통되는 시료를 구입하여 정확히 감정한 후 사용하였다. 표본은 성균관대학교 약학대학 표본실에 보관(SKK-01-003)되어 있다.

기기 및 시약 – 용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. NMR은 Bruker AMX 500과 Varian UNITY INOVA-500 spectrophotometer를 사용하였다. EI Mass spectrum은 VG 70-VSEQ mass spectrometer (VG Analytical, UK)를 사용하여 측정하였다. LPLC용 column은 Lobar[®]-A Lichroprep Si 60(Merck) column을 사용하였고 pump는 DURAMAT 80 pump (Germany)를 사용하였다. 분취용 HPLC는 JAI LC 908 model (Japan analytical instrument)로서 detector는 UV detector와 RI detector를 동시에 사용하였고 column은

*교신저자(E-mail) : krlee@yurim.skku.ac.kr

JAIGEL 1H (20×900 mm)와 2H (20×900 mm)를 연결하여 사용하였다. Column packing용 silica gel은 Kiesel gel 60 (Merck)를 사용하였고, Sephadex는 lipophilic Sephadex LH-20(Sigma)을 사용하였으며, TLC plate는 Kiesel gel 60F₂₅₄ (Merck)을 사용하였다. 발색 시약은 10% H₂SO₄ (EtOH) 및 dragendorff 발색시약을 사용하였으며 UV 254 nm, 365 nm detection을 병행하였다. 추출, 분획 및 column chromatography용 시약은 1급 시약을 정제 없이 사용하였고 나머지 시약은 1급 시약을 정제해서 사용하거나 특급 시약을 사용하였다.

추출 및 분리 - 건조중량 약 10 Kg의 세절한 경포부자를 1N-HCl 수용액을 용매(20 L)로 3회 상온 냉침하였고 추출액을 여과한 후 NaOH 수용액을 첨가하여 pH를 6~7으로 조정된 다음 수욕상에서 감압 농축하여 엑기스 450 g을 얻었다. 이 엑기스에 암모니아 ether (암모니아수 170 ml, ether 1870 ml)를 가하여 3회 추출한 후 감압 농축하여 ether 엑기스 (3 g)를 얻었고,³⁾ ether 엑기스로부터 화합물 3종을 분리하였다.

화합물의 분리 - Ether 엑기스 (3 g)을 alumina column chromatography (hexane : ethyl acetate : EtOH = 7:2:1)를 실시하여 4개의 분획 (AC1~AC4)으로 나누었으며, 각 분획에 대하여 Sephadex LH-20과 Lobar[®]-A column chromatography로 정제하여 화합물 1~3을 분리 정제하였다. 즉, AC1 (700 mg) 분획은 Sephadex LH-20(MeOH)과 Lobar[®]-A column chromatography (Ethyl acetate : MeOH = 6:4)로 정제하여 무색 오일상의 화합물 1(15 mg)을 얻었으며, AC2 (300 mg) 분획을 Sephadex LH-20 (MeOH)과 Lobar[®]-A column chromatography (Ethyl acetate : MeOH = 7:3)로 정제하여 결정상의 화합물 2(50 mg)를 얻었다. AC4(200 mg) 분획은 Sephadex LH-20 (MeOH)과 Lobar[®]-A column chromatography (Ethyl acetate : MeOH = 6:4)로 정제하여 무색 오일상의 화합물 3(5 mg)을 얻었다.

Compound 1 - Colorless oil, mp 205°C; $[\alpha]_D^{20}$: -132.1° (CHCl₃; c 0.028); IR $\nu_{\max}^{(\text{CHCl}_3)}$ cm⁻¹ : 3520-3460, 1710; EI-MS m/z : 357 [M]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.31, 5.20 (each 1H, br.s, H-17), 4.36 (1H, s, H-15), 3.85 (1H, dd, $J=9.5, 6.5$ Hz, H-1), 3.35 (1H, dd, $J=17.5, 11.5$ Hz), 3.10 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-13), 2.36 (1H, dd, $J=17.5, 7.0$ Hz), 2.11 (1H, d, $J=12.5$ Hz, H-14), 1.61 (1H, dt, $J=13.5, 4.5$ Hz, H-3), 1.46 (1H, dd, $J=12.5, 4.0$ Hz, H-14), 1.37 (1H, dd, $J=11.5, 5.5$ Hz), 1.06 (3H, t, $J=7.0$ Hz, Me in NCH₂CH₃), 0.76 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 210.0 (C-12), 151.3 (C-16), 111.6 (C-17), 77.6 (C-15), 70.6 (C-1), 66.2 (C-20), 57.7 (C-19), 54.1 (C-13),

52.7 (C-10), 51.1 (NCH₂CH₃), 50.3 (C-8), 49.5 (C-5), 43.8 (C-7), 38.3 (C-14), 37.6 (C-11), 35.5 (C-9), 34.3 (C-4), 32.4 (C-3), 31.9 (C-2), 26.3 (C-18), 23.5 (C-6), 13.8 (NCH₂CH₃).

Compound 2 - Colorless needles, mp 160°C; $[\alpha]_D^{20}$: +25.6°(CHCl₃; c 0.026); IR $\nu_{\max}^{(\text{CHCl}_3)}$ cm⁻¹ : 3485 (br), 1470, 1070; EI-MS m/z : 437 [M]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 4.21 (1H, t, H-14), 4.16 (1H, d, $J=6.5$ Hz, H-6), 3.70 (1H, brs, H-1), 3.64 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-18), 3.25 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-18), 3.36 (3H, s, OCH₃), 3.34 (6H, s, 2×OCH₃), 2.19 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-5), 1.12 (3H, t, $J=7.0$ Hz, NCH₂CH₃); ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 82.9 (C-6), 81.8 (C-16), 80.3 (C-18), 76.1 (C-14), 74.4 (C-8), 72.4 (C-1), 60.4 (C-17), 59.4 (OCH₃), 57.8 (OCH₃), 57.0 (C-19), 56.3 (OCH₃), 52.2 (C-7), 49.5 (C-11), 48.4 (C-9), 48.2 (NCH₂CH₃), 45.0 (C-10), 44.2 (C-5), 42.9 (C-15), 40.1 (C-13), 38.2 (C-4), 29.4 (C-3), 29.3 (C-12), 29.1 (C-2), 13.0 (NCH₂CH₃).

Compound 3 - Colorless oil, $[\alpha]_D^{20}$: +10.7°(CHCl₃; c 0.026); IR $\nu_{\max}^{(\text{CHCl}_3)}$ cm⁻¹ : 3470 (br), 1450, 1090; EI-MS m/z : 409 [M]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 4.24 (1H, dd, $J=9.6, 4.7$ Hz, H-14), 4.20 (1H, d, $J=6.6$ Hz, H-6), 3.72 (1H, brs, H-1), 3.64, 3.25 (each brd and d, $J=8.0$ Hz, H-18), 3.34 (3H, s, OCH₃), 3.32 (6H, s, 2×OCH₃), 2.20 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-5); ¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 83.2 (C-6), 81.7 (C-16), 80.2 (C-18), 75.9 (C-14), 74.0 (C-8), 72.3 (C-1), 59.4 (C-17), 59.2 (OCH₃), 57.8 (OCH₃), 56.9 (C-19), 56.3 (OCH₃), 52.3 (C-7), 49.7 (C-11), 48.6 (C-9), 45.0 (C-10), 44.2 (C-5), 42.6 (C-15), 40.1 (C-13), 38.3 (C-4), 29.6 (C-3), 29.5 (C-12), 29.0 (C-2).

결과 및 고찰

Compound 1은 10% 황산에 갈색, dragendorff 시약에 주황색으로 발색되는 화합물로서, EI-MS (molecular ion peak : m/z 357), ¹H- 및 ¹³C-NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 C₂₂H₃₁N₃O₃으로 추정하였다. IR 스펙트럼에서는 3520-3460과 1710 cm⁻¹의 peak를 관찰할 수 있었으며, 이를 통하여 OH기의 존재를 추정할 수 있었다. ¹H-NMR spectrum은 δ 1.06에서 N-CH₂-CH₃ (3H, t, $J=7.0$ Hz)을 보여주며, δ 5.31, 5.20 (each 1H, brs)에서 exomethylene의 이중결합 존재를 관찰할 수 있었고, δ 4.36 (1H, s)과 3.85 (1H, dd, $J=9.5, 6.5$ Hz)에서는 두 개의 carbinol proton을 관찰할 수 있었다. ¹³C-NMR 상에서 총 22개의 탄소 중 N-CH₂-CH₃

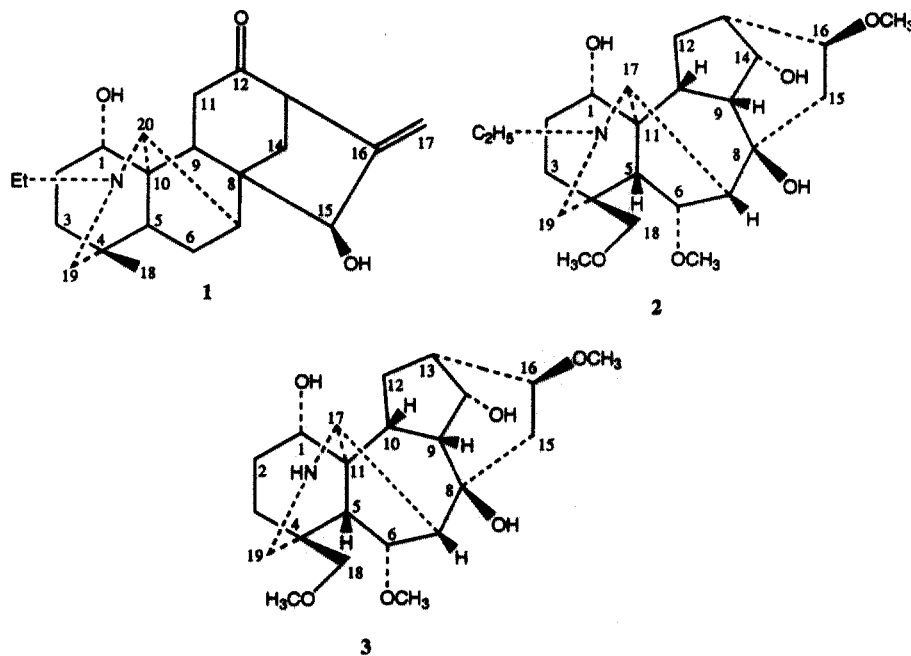


Fig. 1. Structures of Compounds 1-3.

(51.1, 13.8 ppm) 및 exomethylene (111.6 ppm, C-17)의 3개 탄소를 제외하면 기본골격이 19개의 탄소로 이루어진 C_{19} -diterpene alkaloid로 추정할 수 있다. 또한 δ 210.0에서는 keton peak를, δ 70.6과 77.6에서는 oxygenated carbon peak를 관찰할 수 있었으며, 두 개의 amino-carbon peak를 δ 57.7 및 66.2에서 관찰할 수 있었다. C_1 - α -OH인 경우 A-ring은 boat form으로 안정화되며, 이때 C_1 은 70 ppm 부근에서 나타나고 methoxy로 치환될 경우 chair form으로 되어 C_1 의 chemical shift는 10 ppm 정도 저장으로 이동되어 80 ppm 이상의 지역에서 나타나게 된다.⁵⁾ ^{13}C -NMR의 70.6 ppm과 MS spectrum에서 m/z 340 (M^+ -17)의 base peak는 C_1 - α -OH의 존재를 확인해 준다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 1은 songorine (bullatine-G)으로 추정하였으며, 이미 *Aconitium talassicum*에서 분리 보고된 화합물임을 문헌⁶⁾을 통하여 확인할 수 있었다.

Compound 2는 10% 황산에 갈색, dragendorff 시약에 주황색으로 발색되는 화합물로서, EI-MS (molecular ion peak : m/z 437), 1H - 및 ^{13}C -NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 $C_{24}H_{39}NO_6$ 으로 추정하였다. IR 스펙트럼에서는 3470 cm^{-1} 의 peak를 관찰할 수 있었으며, 이를 통하여 OH기의 존재를 추정할 수 있었다. 1H -NMR spectrum에서는 δ 1.12에서 $N-CH_2-CH_3$ (3H, t, $J=7.0$ Hz)를, δ 3.36 (3H, s), 3.34 (6H, s)에서 세 개의 aliphatic methoxy group을 관찰하였고, 네 개의 oxygenated methine peak를 δ 4.21 (1H, t, H-14),

4.16 (1H, d, $J=6.5$ Hz, H-6), 3.70 (1H, brs, H-1) 및 3.36 (1H, m, H-16)에서, oxygenated methene peak를 δ 3.64 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-18) 및 3.25 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-18)에서 관찰할 수 있었다. ^{13}C -NMR 상에서 총 24개의 탄소 중 $N-CH_2-CH_3$ (48.2, 13.0 ppm) 및 $3 \times OCH_3$ (59.4, 57.8, 5.3 ppm)의 5개 탄소를 제외하면 기본골격이 19개의 탄소로 aconitium속 식물로부터 분리 보고된 바 있는 C_{19} -diterpene alkaloid의 일종으로 추정할 수 있었다. C_1 경우는 화합물 1에서 언급한 것과 같이 72.4 ppm에서 관찰하여 C_1 - α -OH로 추정하였으며, C_8-OCH_3 인 경우 C_8-OH 보다 C_7 과 C_8 의 chemical shift가 저 자장으로 이동되어 나타나고 있으나⁷⁾ 화합물 2는 74.4 ppm의 고자장에서 나타남을 관찰하여 C_8-OH 의 chemical shift에 해당하는 것을 알 수 있었다. 천연에서 나타나는 대부분의 C_{19} -diterpene alkaloid는 C_{16} - β - OCH_3 를 갖고 있으며, 81.8 ppm의 chemical shift는 16번 탄소에 해당된다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 2는 neoline (bullatine-B)으로 추정하였으며, 이미 *Aconitium ferox*에서 분리 보고된 화합물임을 문헌⁸⁾을 통하여 확인할 수 있었다.

Compound 3은 10% 황산에 갈색, dragendorff 시약에 주황색으로 발색되는 화합물로서, EI-MS (molecular ion peak : m/z 409), 1H - 및 ^{13}C -NMR data를 통해 이 화합물의 분자식은 $C_{22}H_{35}NO_6$ 으로 추정하였다. IR 스펙트럼에서는 3470 cm^{-1} 의 peak를 관찰할 수 있었으며, 이를 통하여 OH기의 존재를 추정할 수 있었다. 화합물 3은 화합물 2와 그 양상

이 거의 비슷하여⁸⁾ ¹H-NMR spectrum에서는 δ 3.32~3.34에서 세 개의 aliphatic methoxy group이 관찰되나 δ 1.12의 N-CH₂-CH₃ (3H, t, J=7.0 Hz)가 관찰되지 않았다. ¹³C-NMR에서는 총 22개의 탄소중 methoxy기 (59.2, 57.8, 56.3 ppm)의 3개 탄소를 제외하면 기본골격이 19개의 탄소로 aconitium속 식물로부터 분리 보고된 바 있는 C₁₉-diterpene alkaloid의 일종으로 추정할 수 있었다. 화합물 3의 ¹³C-NMR에서도 화합물 2의 ¹³C-NMR과 거의 유사하나 (C₁- α -OH, C₈-OH 및 C₁₆- β -OCH₃) δ 48.2, 13.0의 ethylamino group의 peak는 관찰되지 않았다. 이를 종합해본 결과 화합물 3은 화합물 2의 N에서 C₂H₅가 떨어져나간 구조로서 추정하였으며, 문헌⁹⁾ 조사결과 *Delphinium staphisagria*에서 분리된 neoline을 KMnO₄로 처리하여 얻은 N-deethylneoline임을 알 수 있었다. 화합물 3은 시료를 가공하는 과정에서 형성된 인조산물일 가능성이 있으며, 천연에서는 아직 보고된 바가 없다.

감사의 말

본 연구는 식품 의약품 안전청의 생약지표성분 표준품제조에 관한 연구과제(2001년)의 일환으로 수행되었다.

인용문헌

1. 한대석(1997) 생약학, 156, 동명사, 서울.
2. Kitagawa, I., Chen, Z. L., Yoshihara, M., Kobayashi, K., Yeshikawa, M., Ono, N. and Yoshimura, Y. (1984) Chemical studies on crude drug processing. III. Aconiti Tuber (2). On the constituents of Pao-fuzi, the processed tuber of *Aconitum carmichaeli* DEBX. and biological activities of lipo-alkaloids. *Yakugaku Zasshi* 104: 858-866.
3. Hikino, H., Murakami, M., Konno, C. and Watanabe H. (1983) Determination of Aconitine alkaloids in *Aconitum* roots. *Planta Med.* 48: 67-71.
4. Nagao, T., Hachiyama, S., Okabe, H., Yamaguchi, T. (1989) Studies on the constituents of *Aster tataricus* L. F. II. Structures of aster saponins isolated from the root. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 1977-1983.
5. Pelletier, S.W., Mody, N.V. and Sawhney, R.S. (1979) Carbon-13 nuclear magnetic spectra of some C19-diterpenoid alkaloids and their derivatives. *Can. J. Chem.* 57: 1652-1655.
6. Yue, J., Xu, J., Chen Y. and Chen, S. (1994) Diterpenoid alkaloids from *Aconitium talassicum*. *Phytochemistry* 37: 1467-1470.
7. Pelletier S. W. and Sawhney, R.S. (1979) Septentrionine and septentriodine: two new C-19-diterpenoid alkaloids from *Aconitium septentrionale* Koelle. *Heterocycles* 12: 377-381.
8. Hanuman, J. B. and Katz, A. (1994) Diterpenoid alkaloids from Ayurvedic processed and unprocessed *Aconitium ferox*. *Phytochemistry* 36: 1527-1535.
9. Pelletier, S. W. and Badawi, M. M. (1987) New alkaloids from *Delphinium staphisagria*. *J. Nat. Prod.* 50: 381-385.

(2002년 4월 20일 접수)