

진범 전초의 새로운 aromatic amides 성분

김대근 · 곽종환 · 권학철 · 송기원 · 지옥표 · 이강노[#]

성균관대학교 약학대학

(Received June 13, 1996)

New Aromatic Amides from *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum*

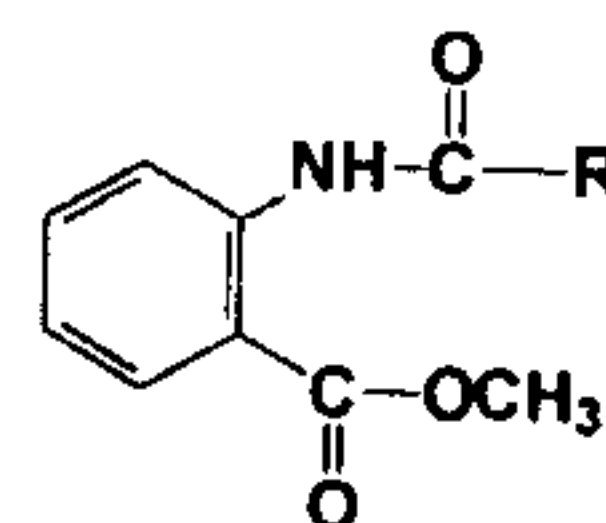
Dae Keun Kim, Jong Hwan Kwak, Hack Chol Kwon, Ki Won Song,
Ok Pyo Zee and Kang Ro Lee[#]

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

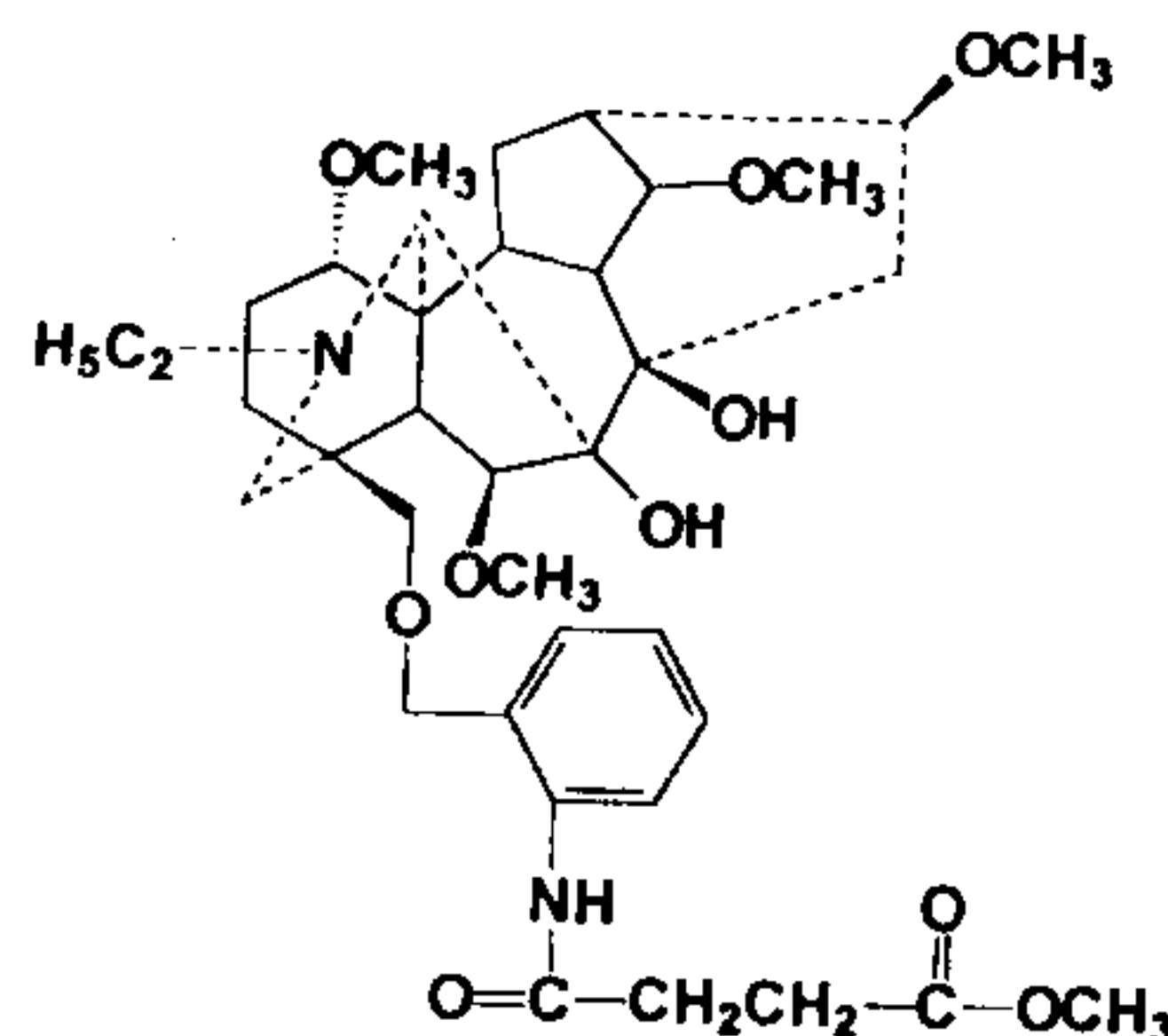
Abstract—From the ethanol extract of the whole plant of *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum* Nakai, three new aromatic amides, methyl-N-acetyl anthranilate, methyl-N-(3-ethoxycarbonylpropionyl)anthranilate, methyl-N-(3-methoxycarbonylpropionyl)anthranilate were isolated and characterized on the basis of spectral data.

Keywords □ *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum*, Ranunculaceae, Aromatic amide, Methyl-N-acetylanthranilate, Methyl-N-(3-ethoxycarbonylpropionyl)anthranilate, Methyl-N-(3-methoxycarbonylpropionyl)anthranilate.

진범(*Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum*)은 우리나라 산지의 응달에 자생하며 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본으로 한방에서는 해열, 진통, 진경, 이뇨, 황달, 종기, 중풍 및 충독 등에 널리 사용되고 있다.^{1,2)} 진범에 대한 연구는 지하부에서 lycoctonine type의 C₁₉-diterpene계 alkaloid인 avadharidine, lycoctonine, septentriodine과 aromatic amide인 methyl-N-(3-carbamoylpropionyl)anthranilate, methyl-N-(2-acetaminobenzoyl)anthranilate 등이 분리보고된 바가 있다.^{3,4,5)} 본연구는 전보⁶⁾의 계속적인 연구로서 천연에서는 새로운 물질인 aromatic amide 3종(1,2,3) 및 기지물질인 diterpene alkaloid인 septentriodine(4)을 분리하여 기분석적 방법에 의하여 그 구조(Fig. 1)를 규명하였기에 보고하고자 한다.



- R = CH₃ : Compound 1
CH₂CH₂COOCH₂CH₃ : Compound 2
CH₂CH₂COOCH₃ : Compound 3



Compound 4

Fig. 1 — Structures of compound 1-4.

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0331-290-7710 (팩스) 0331-292-8800

실험방법

실험재료 - 1993년 9월 강원도 오대산에서 채취하여 식물 분류학적으로 정확히 감정한 다음 신선한 상태에서 전초를 세절하여 사용하였다.

기기 및 시약 - 용점은 Gallenkamp melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 온도는 보정하지 않았다. IR은 Nicolet model 205 FT-IR spectrophotometer를 사용하였으며, UV는 Shimadzu UV 240 UV-Visible recording spectrophotometer, $^1\text{H-NMR}$ 은 Varian Gemini-200(200 MHz) 및 $^{13}\text{C-NMR}$ 은 Bruker AMX-500 spectrometer(125 MHz), Mass spectrum은 JMS-DX303 mass spectrometer (JEOL)를 사용하여 측정하였다. 추출 및 column chromatography용 용매는 시약용 1급을, 기타 시약은 특급을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Merck사의 kieselgel 60(Art. 9385 and 7734)을, Sephadex LH-20은 Sigma사의 bead size 25~100 μ 를 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ precoated plate(Art. 5552, Merck)를 사용하였다. LPLC 용 Column은 Lobar-A Lichroprep Si 60 (Merck)을 사용하였다.

추출 및 분리 - 세절한 전초 약 1.5 Kg을 상온에서 EtOH로 2회 추출하여 얻은 엑스 60 g을 EtOAc-MeOH-Water(100 : 15 : 1~25 : 5 : 4) 유출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 5개 subfraction(F21~F25)으로 나누었으며, F23분획을 EtOAc-MeOH-H₂O(100 : 10 : 7)로 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 분획(F231~F236)으로 나누었다. F231분획을 n-hexane-EtOAc(5 : 1)로 용출시켜 다시 3개의 분획(F2311~F2313)으로 나누고, 이들 분획들로부터 화합물 1, 2, 3을 분리하였다. 화합물 4는 F24분획을 n-hexane-EtOAc-MeOH(10 : 10 : 1) 용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 분리하였다.

화합물 1 - F2311을 n-hexane-EtOAc(5 : 1) 유출용매로 Lobar-A column으로 정제하여 백색의 무정형 물질 8 mg을 분리하였다.

EIMS(70 eV), m/z (relative intensity) : 193[M]⁺ (12), 159(100), 104(65), 51(72), $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl₃, ppm) δ : 2.24(3H, s, NHCOCH₃), 3.93(3H, s, COOCH₃), 7.10(1H, m, H-5), 7.55

Table I— $^{13}\text{C-NMR}$ chemical shifts of compound 1~3(125 MHz, CDCl₃)

Carbon No.	Compound 1	Compound 2	Compound 3
1	114.8	114.9	114.9
2	141.6	141.5	141.4
3	120.3	120.4	120.4
4	134.7	134.6	134.6
5	122.4	122.4	122.4
6	130.8	130.7	130.8
C=O	168.8	168.7	168.7
OCH ₃	52.8	52.3	52.3
R: C=O	169.0		
CH ₃	25.5		
CH ₂		29.3	29.0
CH ₂		32.8	32.7
C=O		172.5	173.0
ethyl		60.7	
		14.2	
methyl			51.8

(1H, m, H-4), 8.03(1H, d, $J=8.1$, H-6), 8.70(1H, d, $J=8.5$, H-3), 11.05(1H, br.s, NH); $^{13}\text{C-NMR}$: (125 MHz, CDCl₃, ppm) δ : Table 1

화합물 2 - F2312분획을 n-hexane-EtOAc(7 : 1) 유출용매로 Lobar-A column으로 정제하여 백색의 무정형물질 10 mg을 얻었다.

EIMS(70 eV), m/z (relative intensity) : 279[M]⁺ (24), 151(100), 129(27), 119(41), 101(43), $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl₃, ppm) δ : 1.26(3H, t, $J=7.1$ Hz, COOCH₂CH₃), 2.76(4H, t, $J=3.1$ Hz, CO(CH₂)₂CO), 3.94(3H, s, COOCH₃), 4.17(2H, q, $J=7.1$ Hz, COOCH₂CH₃), 7.07(1H, m, H-5), 7.53(1H, m, H-4), 8.02(1H, d, $J=8.1$, H-6), 8.69(1H, d, $J=8.5$, H-3), 11.14(1H, br.s, NH); $^{13}\text{C-NMR}$: (125 MHz, CDCl₃, ppm) δ : Table 1.

화합물 3 - F2313분획을 n-hexane-EtOAc-MeOH(20 : 20 : 1)의 유출용매로 sephadex LH-20 column으로 정제하여 백색의 무정형물질 20 mg을 얻었다.

mp : 68~70°C, IR($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$) : 3262(NH), 1734, 1707(CO), 1692, 1534(Ar-CH). EIMS(70 eV), m/z (relative intensity) : 265[M]⁺ (17), 151(100), 119(70), UV(nm) λ_{max} (CHCl₃) : 340, $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl₃, ppm) δ : 2.77(4H, t, $J=3.1$ Hz, CO(CH₂)₂CO), 3.71(3H, s, (CH₂)₂COOCH₃), 3.93(3H, s, COOCH₃), 7.08(1H, m, H-5), 7.53(1H, m, H-4), 8.02(1H, d, $J=8.1$, H-6), 8.68(1H, d, $J=8.6$,

H-3), 11.15(1H, br.s, NH); $^{13}\text{C-NMR}$: (125 MHz, CDCl_3 , ppm) δ : Table I

화합물 4 - F24분획을 n-hexane-EtOAc-MeOH (10 : 10 : 1) 유출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 3개의 분획(F241~F243)으로 나누고, F242분획을 동일한 유출용매로 Lobar-A column으로 정제하여 백색의 무정형물질 200 mg을 분리하였다.

EIMS(70 eV), m/z (relative intensity) : 714[M]⁺, 699, 683, 651, 450(100), 233, $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3 , ppm) δ : 1.07(3H, t, $J=7.2$ Hz, N- CH_2CH_3), 2.76(4H, s, $\text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CO}$), 3.26, 3.34, 3.38, 3.41 (each 3H, s, OCH_3), 3.70(COOCH_3), 7.14(1H, m, H-5), 7.55(1H, m, H-4), 7.97(1H, d, $J=8.0$, H-6), 8.70(1H, d, $J=8.5$, H-3)

결과 및 고찰

화합물 1은 백색의 무정형물질로서 EIMS에서 m/z 193에서 molecular ion peak를 관찰할수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum의 aliphatic지역에서는 δ 3.93 ppm의 methoxyl기, δ 2.24 ppm에서 methyl기 peak뿐이며, δ 7.07~8.69 ppm 사이에서 2개의 doublet peak와 2개의 triplet peak로 보아서 이물질은 disubstituted aromatic ring 화합물로서 홀수의 molecular ion peak 및 δ 11.14 ppm의 broad singlet peak로 보아 2급 amine(NH)기의 존재를 예측할수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum의 δ 168.8 ppm과 δ 169.0 ppm peak는 2개의 carbonyl peak로 예상되며, 따라서 이물질은 amide기와 ester기가 aromatic ring에 치환되어 있는 물질로 추정할수 있다. 이런 추측은 진범의 지하부로부터 aromatic amide성분이 분리보고^{3,4,5)}된 예가 있기 때문에 더욱 가능하다. 이상의 자료로부터 화합물 1은 methyl-N-acetyl-anthranilate로 구조를 확정하였다. 이물질은 합성된 예는 있으나^{7,8,9)} 천연에서는 처음 보고 되는 것이다.

화합물 2는 MS에서 m/z 279에서 분자이온 peak가 나타났으며, NMR spectrum 양상이 화합물 1과 거의 유사하였으므로 화합물 1과 동일한 모핵에 단지 치환기 차이가 있을 뿐이라고 추측하였다. 즉, $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 화합물 2는 화합물 1보다 δ 4.17(2H, q, $J=7.1$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$), δ 2.76(4H, t, $J=3.1$ Hz, CO

$(\text{CH}_2)_2\text{CO}$), δ 1.51(3H, t, CH_2CH_3)의 peak가 더 존재할 뿐이었으며, $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 carbonyl탄소가 1개 더 존재(172.5 ppm)하였다. 이상의 결과로 이 화합물은 methyl-N-(3-ethoxycarbonylpropionyl)anthranilate로 구조를 확정하였다. 이 물질은 천연에서 처음 분리되었으나 methyl-N-(3-carboxylpropionyl)anthranilate가 이 식물에 들어있는 원래의 물질일 가능성이 있으며 화합물 2는 용매추출(ethanol)과정중에 ester화가 일어난 artefact일 가능성도 배제할 수 없다.

화합물 3은 MS spectrum에서 분자량이 265이었으며 IR spectrum에서는 3262 cm^{-1} 에서 NH, 1734 및 1707 cm^{-1} 에서 ester 및 amide의 carbonyl기를 관찰할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum 양상은 화합물 2와 아주 유사하였다. 즉, 3.87 ppm에 methoxyl기 peak가 있는 대신에 δ 4.17과 δ 1.51 ppm peak가 없었다. 이것은 ethyl기가 methyl기로 치환된 물질임을 알수 있다. 이상으로부터 화합물 3은 methyl-N-(3-methoxycarbonylpropionyl)anthranilate로 확정하였다.

화합물 1, 2 및 3은 천연에서는 처음 분리되어 구조가 결정되었으며, 화합물 4는 물리적 성상 및 기기분석 자료로부터 본 식물에서 분리된 septentriodine³⁾으로 확인하였다.

문헌

- 1) 이창복 : 대한식물도감, 향문사, 서울, p. 359 (1989).
- 2) 김재길 : 원색천연약물대사전(하권), 서울, p. 86 (1984)
- 3) Chung, B. S. and Lee, H. S. : Studies on Korean Aconitum Species(IV), Alkaloids of *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum*, *Kor. J. Pharmacogn.* **19**, 181 (1988).
- 4) Lee, H. S. and Chung, B. S. : Studies on Korean Aconitum Species(V), On the Chemical Constituents of *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum*, *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 6 (1989).
- 5) Lee, H. S., Ahn, Y. K. and Han, D. S. : A New Aromatic Amide from the Roots of *Aconitum pseudo-laeve* var. *erectum*, *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 215 (1989).
- 6) Kim, D. K., Kwak, J. H., Song, K. W., Kwon, H. C., Zee, O. P., and Lee, K. R. : Phytochemical Constituents from *Aconitum pseudo-*

- laeve* var. *erectum*, *Kor. J. Pharmacogn.* **27**, 75 (1996).
- 7) Brown, R. F. C., Radom, L., Sternhell, S., and Rae, I. D. : Proton Magnetic Resonance Spectra of Some Aromatic Amines and Derived Amides. *Can. J. Chem.* **46**, 2577 (1968).
- 8) Andrews, B. D., Rae, I. D., and Reichert, B. E. : Intramolecular Hydrogen Bonding in 2'-Substituted Anilides. *Tetrahedron Lett.* 1859 (1969).
- 9) Gribble, G. W. and Bousquet, F. P. : Deshielding Effects in the NMR Spectra of ortho-substituted Anilides and Thioanilides. *Tetrahedron* **27**, 3785 (1971).