

## 섬초오의 Diterpene Alkaloid

김영호\* · 황방연 · 김항섭 · 이성우 · 이형규 · 이정준

KIST, 유전공학연구소

### Diterpene Alkaloid from *Aconitum napiforme*

Young Ho Kim\*, Bang Yeon Hwang, Hang Sub Kim, Sung Woo Lee,

Hyeong Kyu Lee and Jung Joon Lee

KIST, Genetic Engineering Research Institute, Taejon 305-606, Korea

**Abstract**—A diterpene alkaloid in addition to hypaconitine and mesaconitine was isolated from the tubers of *Aconitum napiforme* (Ranunculaceae), which is an indigenous plant in Korea. Its structure was elucidated as 8-methoxy 14-benzoyl hypaconine by physicochemical and spectroscopic data. This compound was isolated from this plant for the first time.

**Keywords**—*Aconitum napiforme* · Ranunculaceae · diterpene alkaloid · 8-methoxy 14-benzoyl hypaconine

섬초오(*Aconitum napiforme* Lev. et Vnt.)는 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본으로 한라돌쩌귀라고도 하며, 제주도를 비롯한 우리나라 남부지방에 자생하는 한국 특산식물이다<sup>1)</sup>. 초오류 생약은 예로부터 强心, 解熱, 鎮靜, 鎮痛, 新進代謝 및 機能亢進 등의 목적으로 쓰여온 중요한 생약이나, 과량사용시 중추신경마비, 말초신경마비, 호흡중추마비, 시력장애, 소화기자극 등의 독성유발로 치사되는 경우가 있어 장기간 연수에 침적하거나 가열처리 등의 수처리를 행하여 독성을 감소시켜서 사용해오고 있다<sup>2)</sup>. *Aconitum*속 식물의 분성에 관한 연구는 외국의 경우 *A. napellus*로부터 aconitine이 분리된 이래 *Aconitum*속 식물로부터 500여종의 diterpene alkaloid가 분리 보고되었다. 국내에서는 *Aconitum*속이 30종 10변종으로 기록되어 있다<sup>3)</sup>. 한국산 부자류 생약에 관한 연구로서는 섬초오 *A. napiforme*<sup>4)</sup>와 그늘돌쩌귀 *A. uchiyamai*<sup>5)</sup>로부터 mesaconitine과 hypaconitine이 분리 동정되었고, 노랑투구꽃 *A. sibiricum*

으로부터는 lycoctonine type의 tuguaconitine이 분리되고 되었다<sup>6)</sup>. 또 진범 *A. pseudolaeva* var. *erectum*으로부터는 methyl-N-(2-acetaminobenzoyl) anthranilate와<sup>7)</sup> methyl-N-(3-carbamoyl propionyl) anthranilate, lycoctonine, septentriodine, avadharidine 등의 alkaloid가 보고되었다<sup>8,9)</sup>. 무독부자의 제조에 관한 연구도 수행하여 修治에 의해 생성되는 성분변화로서 mesaconitine과 hypaconitine을 열처리 또는 alkali 처리하여 생성되는 benzoyl mesaconine과 benzoyl hypaconine의 생성 양을 확인하였다<sup>10)</sup>. 본 연구에서는 한국산 부자류 생약에 관한 계속적인 연구로서 한국 특산 식물인 섬초오로부터 alkaloid 성분검색을 실시하여 지표물질 확보와 국산 초오류 생약개발을 위하여 본 연구를 실시하였다.

### 실험 방법

**실험 재료**—실험에 사용한 섬초오는 1992년 10월 제주도에서 채집하여 음건후 조말로 하여

실험에 사용하였다.

시약 및 기기—용접은 Electrothermal IA 9100 Digital M.P. Apparatus를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다. UV spectrum은 Milton Roy Spectronic 3000 Array로 측정하였고,  $^1\text{H-NMR}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum은 Varian 300 spectrometer를 사용하여 측정하였다. MS spectrum은 Hewlett-Packard MS Engine-5989 A를 사용하였다. Column chromatography용 silica gel은 Merck사의 Kieselgel 60(Art. No. 7734, 70~230 mesh)과 Aluminum oxide 90 active (neutral, activity I)를 TLC용 plate로는 pre-coated silica gel 60 F<sub>254</sub> plate를 사용하였고, 발색은 Dragendorff 시약을 사용하였다.

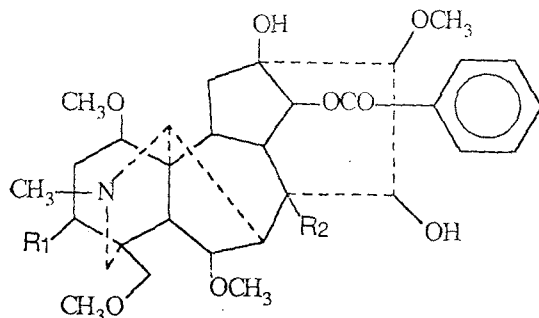
추출 및 분리—섬초오 3 kg을 sonicator(Kukje ultrasonic Co.)를 이용하여 MeOH(5 l×3회)로 추출하였다. 추출액을 45°C 이하에서 감압농축하여 얻은 MeOH extract 86 g을 증류수 1 l에 현탁하고 1N-HCl로 pH 3이 되게 조절한 후 *n*-hexane(400 ml×3회)으로 분획하였다. 다시 H<sub>2</sub>O층을 NH<sub>4</sub>OH로 pH 10으로 조절한 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(400 ml×4회)으로 추출하여 추출액을 얻고 이를 감압농축하여 alkaloid fraction 10 g을 얻었다. Alkaloid fraction을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH gradient의 용매(100%~0%)로 silica gel column chromatography를 실시한 후 TLC pattern에 의해 4개의 fraction을 얻었다(fr. 1~fr. 4). Fr. 3을 계속해서 hexane-EtOAc(5:1, 2:1)를 전개용매로 하여 alumina column chromatography를

실시하여 백색의 무정형 분말인 compound I(48 mg)을 얻었다.

mp 154~156°(uncorrected); UV,  $\lambda_{\text{max}}$ (EtOH) 231, 275 nm; EIMS  $m/z$  587(M<sup>+</sup>), 556(M<sup>+</sup>-OCH<sub>3</sub>), 524(M<sup>+</sup>-OCH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH);  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.54(3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 3.14(3H, s, 18-OCH<sub>3</sub>), 3.29(6H, s, 8, 16-OCH<sub>3</sub>), 3.31(3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.75(3H, s, 1-OCH<sub>3</sub>), 4.04(1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-6), 4.57(1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-15), 4.86(1H, d,  $J=$

Table I.  $^{13}\text{C-NMR}$  data of compound 1~4(CDCl<sub>3</sub>)

	1		2	3	4
1	84.18	CH	85.0	82.34	83.2
2	25.46	CH <sub>2</sub>	26.4	33.10	35.8
3	33.03	CH <sub>2</sub>	34.9	71.06	70.9
4	38.96	C	39.3	42.39	43.5
5	45.96	CH	48.2	44.95	46.5
6	82.82	CH	83.1	82.82	82.4
7	41.92	CH	44.5	41.86	44.3
8	82.33	C	91.9	82.05	91.8
9	45.14	CH	43.8	44.95	43.7
10	41.42	CH	41.1	41.16	40.8
11	50.61	C	49.9	50.50	49.9
12	36.40	CH <sub>2</sub>	36.3	35.92	34.1
13	74.85	C	74.1	76.58	74.0
14	79.39	CH	78.8	79.24	78.8
15	77.67	CH	78.9	77.34	78.8
16	92.90	CH	90.1	93.11	90.0
17	63.27	CH	62.1	63.20	62.1
18	79.74	CH <sub>2</sub>	80.1	76.99	76.0
19	56.82	CH <sub>2</sub>	56.0	50.13	49.4
N-C	42.84	CH <sub>3</sub>	42.6	42.39	42.3
1'	56.45	CH <sub>3</sub>	56.5	56.18	56.2
6'	58.65	CH <sub>3</sub>	57.9	58.62	57.9
8'	49.83	CH <sub>3</sub>	—	49.95	—
16'	62.05	CH <sub>3</sub>	60.9	62.25	61.0
18'	59.12	CH <sub>3</sub>	59.0	59.13	59.0
CO-Bz.					
CO	166.34	C	166.1	166.25	166.0
1	130.19	C	129.9	129.8	130.04
2	129.75×2	CH	128.6	129.69	129.6
3	128.58×2	CH	128.58	128.37	128.6
4	132.89	CH	133.2	132.93	133.2
CO-CH <sub>3</sub>			172.3	—	172.3
CO-CH <sub>3</sub>			21.3	—	21.4



1. 8-methoxy 14-benzoylhypaconine  
 $\text{R}_1=\text{H}$   $\text{R}_2=\text{OCH}_3$
2. hypaconitine  
 $\text{R}_1=\text{H}$   $\text{R}_2=\text{OAc}$
3. hokbusin A  
 $\text{R}_1=\text{OH}$   $\text{R}_2=\text{OCH}_3$
4. mesaconitine  
 $\text{R}_1=\text{OH}$   $\text{R}_2=\text{OAc}$

4.8 Hz, H-14), 7.45(2H, t, Bz-3,5-H), 7.56 (1H, t, Bz-4-H), 8.05(2H, d,  $J=7.2$  Hz, Bz-2,6-H);  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : Table I 참조.

### 결과 및 고찰

이 화합물은 Dragendorff시약에 양성반응을 나타내었으며, mp 154~156°를 나타내었다. UV 231, 275 nm에서 흡수극대를 나타내었고, EI-MS에서는  $m/z$  587에서 molecular ion peak를 나타내었으며 556[ $\text{M}^+-\text{OCH}_3$ ]이 base peak로 나타났다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서는  $\delta$  2.54에서 N- $\text{CH}_3$ ,  $\delta$  3.14, 3.29(2 $\times$ O $\text{CH}_3$ ), 3.31, 3.75에서 5개의 methoxyl group과  $\delta$  7.45, 7.56, 8.05에서 5개의 aromatic proton을 관찰할 수 있었다.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum을 hypaconitine과 비교하여 보면 거의 동일한 spectrum을 나타내었으나 hypaconitine에서 관찰되던  $\delta$  1.38의  $\text{CH}_3\text{CO}$ 가 관찰되지 않은 대신 aliphatic의  $\text{OCH}_3$  peak가 하나 더 증가한 것을 확인할 수 있었다.  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum을 측정된 결과 32개의 carbon peak가 관찰되었으며 DEPT spectrum에서 6개의 C, 15개의 CH, 5개의  $\text{CH}_2$ , 6개의  $\text{CH}_3$ 를 관찰할 수 있었으나 5개의  $\text{OCH}_3$ , N- $\text{CH}_3$ 와 benzoate의 탄소를 제외하면 골격탄소는 19개이므로 이 화합물은 *Aconitum* 속에서 흔히 보고되는  $\text{C}_{19}$ -diterpene alkaloid의 일종으로 사료되었다. 각 탄소의 chemical shift는 Table I에서와 같이 mesaconitine과 C-8의 위치에  $\text{OCH}_3$ 이 치환되어 있는 hokbusin A, 그리고 hypaconitine의 spectrum을 비교하여 결정하였다. 특징적인 peak로는 hokbusin A의 경우 C-8에 결합하고 있는 methoxyl group이 14 $\alpha$ -benzoate의 aromatic ring의 shielding core 위치에 놓이게 됨으로서 49.95 ppm까지 upfield shift되는 것이 보고되었다<sup>11)</sup>. 이 화합물의 경우 역시 49.93 ppm에서  $\text{OCH}_3$ 의 peak가 관찰됨으로 8번 위치에 hypaconitine의 acetyl group 대신 methoxyl group이  $\beta$ -form으로 결합하고 있는 것을 추정할 수 있었다. 이상의 물리화학적 성질과 spectral data로부터 compound 1은 8-methoxy 14-benzoyl hypaconine으로 동정하였다.  $\text{C}_{19}$ -diterpene alkaloid에서

C-8 acetoxy group을 가지고 있는 화합물들은 MeOH에서 reflux할 경우 acetoxy group이 쉽게 methoxyl group으로 치환되는데, 이러한 반응에 의해서 mesaconitine으로부터 hokbusin A로, aconitine, delphinine, 3-deoxyaconitine, falconerine-8-O-acetate가 각각 8-deacetyl-8-O-methyl 유도체로 치환된 것이 보고되었다<sup>12)</sup>. 최근 일본의 한 연구진들에 의하여 hypaconitine을 MeOH에서 72시간 reflux할 경우 hypaconitine의 8번 위치의 acetoxy group이 methoxyl group으로 치환되는 것이 보고되었으며 이 화합물은 독성이 hypaconitine보다 현저하게 줄어들었으며 AcOH-induced writhing 실험에서 강력한 진통효과와 carageenan으로 유도한 족부종 실험에서도 우수한 항염증효과를 나타내었다<sup>13)</sup>. 본 연구에서 분리한 이 화합물도 섬초오의 MeOH추출과정에서 생성된 artifact일 가능성이 높다. 그러나 섬초오의 hypaconitine 함량이 다른 초오류 생약에 비해서 월등히 높기 때문에 화학적인 수치를 통해서도 다량으로 8-methoxy 14-benzoyl hypaconine을 얻을 수 있을 것으로 생각되며, 또 이 화합물이 독성이 적고 진통작용, 항염증환성이 높아 섬초오는 국산 초오류 생약개발을 위한 좋은 대상 생약이라고 생각된다.

### 결 론

섬초오(*Aconitum napiforme*)로부터 백색 침상결정인 diterpene alkaloid 화합물을 얻었고, 각종 기기분석을 통하여 8-methoxy 14-benzoyl hypaconine으로 동정하였다. 이 화합물은 본 식물에서는 처음으로 분리된 화합물이다.

<1994년 10월 6일 접수 : 10월 17일 수리>

### 참 고 문 헌

1. 鄭普燮, 辛民教: 圖解鄉藥(生藥)大事典, 서울, 永林社, p.478 (1989).
2. 難波恒雄: 原色和漢藥圖鑑(上), 大阪, 保育社, pp.92~97 (1980).
3. 李春寧, 安鶴洙: 韓國植物名鑑, 서울, 范學社, pp. 47~49, 50~51 (1963).

4. 정보섭, 이형규 : 생약학회지 18, 103 (1987).
5. 정보섭, 이형규, 이현선 : 생약학회지 19, 177 (1988).
6. Chung, B.S., Lee, H.K., Pelletier, S.W. and Badawi, M.M.: *J. Nat. Prod.* 49, 1074 (1986).
7. 이현선, 안영국, 한대석 : 생약학회지 20, 215 (1989).
8. 정보섭, 이현선 : 생약학회지 19, 181 (1988).
9. 이현선, 정보섭 : 생약학회지 20, 6 (1989).
10. 박신영, 정보섭, 이형규, 이현선, 류종현 : 생약학회지 20, 25 (1989).
11. Hang, G.-Y., Cai, P., Wang, J.H. and Snyder, J.K.: *J. Nat. Prod.* 51, 364 (1988).
12. Desai, H.K., Joshi, B.S., Ross, S.A. and Pelletier, S.W.: *J. Nat. Prod.* 52, 720 (1989).
13. Mitsuo, M. and Takao, M.: *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01, 143, 859*[89, 143, 85], 06, Jun. (1989).