

## 사철나무의 알칼로이드 성분

류재하<sup>#</sup> · 은진희 · 이소영 · 장준식\* · 박만기\*\* · 박정일\*\* · 한용남\*\*\* · 한병훈\*\*\*  
숙명여자대학교 약학대학, \*보건복지부 보건산업담당관실, \*\*서울대학교 약학대학, \*\*\*서울대학교 천연물과학연구소  
(Received July 30, 1997)

### Sesquiterpene Pyridine Alkaloids from *Euonymus japonica*

Jae-Ha Ryu<sup>#</sup>, Jin Hee Eun, So Young Lee, Joon Shik Chang\*, Man Ki Park\*\*,  
Jeong Hill Park\*\*, Yong Nam Han\*\*\* and Byung Hoon Han\*\*\*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

\*Division of Health Related Industry, Ministry of Health and Welfare

\*\*College of Pharmacy and \*\*\*Natural Products Research Institute

Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

**Abstract**—Two alkaloidal components were isolated from the ether soluble part of the MeOH extract of the root bark of *Euonymus japonica*. Their structures were elucidated by the spectroscopic analyses as the sesquiterpene pyridine alkaloids derived from polyester sesquiterpenes which are characteristically detected in Celastraceae plants. These include macrocycle formed by two ester linkages between dihydro- $\beta$ -agarofuran nucleus and pyridinic dibasic acid (compound 1: evoninic acid, compound 2: wilfordic acid). The structure of compound 1 (C<sub>47</sub>H<sub>59</sub>N<sub>2</sub>O<sub>17</sub>, mp 161~163°C,  $[\alpha]_D^{28} = +31.6^\circ$  (c, 0.1 in EtOH)) was determined as novel structure named as euojaponine N, and compound 2 (C<sub>48</sub>H<sub>57</sub>NO<sub>18</sub>, mp 142~145°C,  $[\alpha]_D^{27} = +27.0^\circ$  (c, 0.1 in EtOH)) was identified as ebenifoline W-I reported from *Maytenus ebenifolia*.

**Keywords** □ Celastraceae, alkaloids, euojaponine N, *Euonymus japonica*.

사철나무(*Euonymus japonica*)는 노박덩굴과(Celastraceae)에 속하는 식물로서 같은 과에 속하는 꼭두서니(*Rubia alkane* Nakai)와 화살나무(*Euonymus alata* Siebold.)와 더불어 월경불순, 월경통 등의 부인병에 사용되었다는 문헌적 근거가 있다.<sup>1,2)</sup> 그런데 최근 노박덩굴과에 속한 식물들의 알칼로이드에 대한 식물화학적 연구가 많이 진행되어 오고 있으며, 대표적으로 두 계열의 알칼로이드가 알려지고 있다. 즉, Kupchan등이 항암효과를 가진 성분으로 분리하여 보고한 바 있는 maytansine<sup>3)</sup>을 포함하는 ansa macrolide계 알칼로이드와 Beroza등이 살충효과를 가진 성분으로 분리한 바 있는 sesquiterpene cy-

clodiester계열<sup>4)</sup> 알칼로이드가 있다. 구조적으로 sesquiterpene계열 알칼로이드는 다수의 다양한 acyl기가 결합된 dihydro- $\beta$ -agarofuran형의 구조, 또는 이들 sesquiterpene핵이 pyridine을 함유한 이염기성산(wilfordic acid 또는 evoninic acid)과 diester결합을 통한 환을 이룬 구조의 두 가지로 대표된다. 한등은<sup>5,6)</sup> sesquiterpene계열의 알칼로이드 성분을 사철나무로부터 분리하여 보고한 바 있으며, 알칼로이드구조 중 sesquiterpene핵의 절대구조를 CD를 이용한 exciton chirality법을 이용하여 결정하여 보고 하였다.<sup>7)</sup> 특히 최근 sesquiterpene계열의 알칼로이드에 대한 연구결과가 광범위한 노박덩굴과 식물을 대상으로 보고되고 있으며, 이는 이들 성분들이 각종 해충에 대한 섭식저해를 통한 살충작용과<sup>8)</sup> 면역조절작용<sup>9)</sup> 및 각종 암세포에 대한 세포독성<sup>10)</sup>이 있는 것으로

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-710-9568 (팩스) 01-714-0745

알려지면서 더욱 활성화되고 있다. 본 연구에서는 계속적인 사철나무의 성분연구로서 2종의 알칼로이드성분을 분리하여 구조연구를 수행한 결과, 이미 *Maytenus ebenifolia*에서 분리하여 보고된 ebenifoline W-1<sup>11)</sup>와 euojaponine N으로 명명한 새로운 구조의 알칼로이드로 결정하였다.

### 실험방법

#### 시약 및 기구

칼람크로마토그래피용 실리카겔은 Merck사의 Kieselgel 60(230~400 mesh 및 70~230 mesh, Merck Art. 9385 및 7734), Alumina는 Aluminum oxide 90(neutral, Merck Art. 1077), TLC plate는 Merck사의 Kieselgel 60 GF<sub>254</sub>(Merck Art. 5715)를 각각 사용하였으며, TLC발색은 254 nm UV lamp, Dragendorff시약 및 10%황산을 사용하였다. 식물의 추출용 용매는 공업용을 증류하여 사용하였으며, 칼람크로마토그래피에는 특급시약을, HPLC에는 HPLC용 용매를 각각 사용하였다.

용점은 Büchi 535 model을, 선광도는 Jasco DIP-1000을, IR은 Shimadzu IR-435 spectrometer를, UV는 Hitachi double beam spectrophotometer을, Mass는 VG Trio-II system을, NMR은 Bruker AMX-300(300 MHz) 및 Jeol JNM-GSX 400 spectrometer(400 MHz)를 각각 사용하였다.

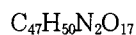
#### 추출 및 분획

사철나무(*Euonymus japonica*)는 경기도 근교에서 채집하여 근피를 건조한 후 조말로 한 8 kg을 실험재료로 사용하였다. 15 l의 MeOH로 4시간씩 3회 환류 추출한 후 감압하에서 농축하여 100 g의 MeOH추출물을 얻었다. MeOH추출물을 물 3 l에 분산시키고 Et<sub>2</sub>O 3 l로 3회 추출하여 합하고 용매를 제거하여 Et<sub>2</sub>O가용성 분획 80 g을 얻었다. 이 Et<sub>2</sub>O가용분획을 2 l의 MeOH에 가온하여 녹인 다음 Pb(OH)Ac수용액을 가하여 산성물질을 침전시키고 더 이상 침전이 생성되지 않는 상태에서 침전을 감압여과한 후 침전을 MeOH로 수회 세척하여 세척액과 여액을 합하여 감압농축하였다. 이와 같이 조제한 중성 및 염기성 분획을 다시 물에 분산시킨 후 Et<sub>2</sub>O로 추출하여 최종적인 사철나무의 Et<sub>2</sub>O가용 중성·염기성 분획 11 g을 얻고

이로부터 알칼로이드성분을 단리하기 위하여 칼람크로마토그래피를 수행하였다. 고정상으로 실리카겔(Merck Art. 9385)을 사용하고 용매는 *n*-Hexane(용매 A)과 2% *i*-PrOH/EtOAc용액(용매 B)을 1:1에서 1:3 까지 용매극성을 증가시키면서 시료를 용출하였다. 먼저 용출되는 Fr. 1-Fr. 5의 비극성 물질들은 대부분 Dragendorff시약에 발색되지 않았으며 Fr. 6부터 알칼로이드가 용출되기 시작하였다. Fr. 1-Fr. 5(1500 mg), Fr. 6(400 mg), Fr. 7-Fr. 9(1020 mg), Fr. 10-Fr. 11(1070 mg), Fr. 12(1900 mg), Fr. 13(1100 mg), Fr. 14(780 mg), Fr. 15(550 mg), Fr. 16(320 mg), Fr. 17(730 mg).

#### Compound 1의 단리

Fr. 15를 실리카겔 CHCl<sub>3</sub>:MeOH(20:1)을 용매로 칼람크로마토그래피하여 Dragendorff 시약에 발색하는 소분획을 얻고, RP-18 칼람과 이동상 55% CH<sub>3</sub>CN을 이용한 semi-prep. HPLC를 통하여 compound 1(8 mg)을 단리하였다.



mp : 161~163°C(EtOH)

$[\alpha]_D^{28} = +31.6^\circ$ (c. 0.1 in EtOH)

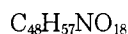
UV $\lambda_{max}^{EtOH}$  nm(log  $\epsilon$ ): 224(4.30), 264(3.68)

IR $\nu_{Max}^{KBr}$  cm<sup>-1</sup>: 3500, 1720~1740, 710

<sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Table I 참조.

#### Compound 2의 단리

Fr. 12를 실리카겔에서 CHCl<sub>3</sub>:MeOH(27:1)을 용매로 칼람크로마토그래피하여 Dragendorff시약에 발색하는 소분획 Fr. 12-2(35 mg)과 Fr. 12-6(60 mg)을 얻고, Fr. 12-2에 대해 계속하여 Alumina와 이동상 Benzene:EtOAc(1:1)을 이용한 칼람 및 RP-18 칼람과 이동상 64% MeOH을 이용한 semi-prep. HPLC를 통하여 compound 2(13 mg)을 단리하였다.



mp : 142~145°C(EtOH)

$[\alpha]_D^{27} = +27.0^\circ$ (c. 0.1 in EtOH)

UV $\lambda_{max}^{EtOH}$  nm(log  $\epsilon$ ): 229(4.24), 270(3.46)

IR $\nu_{Max}^{KBr}$  cm<sup>-1</sup>: 3490, 1750~1730, 1250, 705

<sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Table I 참조.

**Table I**—  $^1\text{H-NMR}$  spectral data for alkaloids from *Euonymus japonica*

Proton	Compound 1*	Compound 2*
1	6.31(d 4.4)	6.11(d 3.7)
2	5.88(m)	5.54(dd 2.2, 3.7)
3	5.14(brs)	5.15(d 2.2)
4	2.96(q 8.1)	(4-OH)
5	6.94(brs)	6.97(brs)
6	2.59(d 4.4)	2.40(d 3.7)
7	5.70	5.56
	(dd 5.9, 4.4)	(dd 3.7, 5.9)
8	5.57(d 5.9)	5.47(d 5.9)
11	4.46, 5.73 (ABq 13.2)	4.60, 5.68 (ABq 13.2)
12	1.42(d 8.1)	1.70(s)
14	1.72(s)	1.74(s)
15	4.13, 5.35 (ABq 11.0)	3.83, 5.82 (ABq 11.7)
4-OH(4-H)	(4-H)	5.04(s)
4'	8.17	8.47
5'	7.64	7.51
6'	8.84	8.82
7'	4.31(q 7.3)	3.11, 4.04(m)
8'	1.57(d 7.3)	2.04, 2.43(m)
9'	2.98(q 7.3)	2.42(m)
10'	1.46(d 7.3)	1.25(7.0)
	1.51(8-Ac)	1.36(8-Ac)
	2.27(Ac)	2.15(Ac)
Ac	2.36(Ac)	2.20(Ac)
	2.38(11-Ac)	2.23(11-Ac)
benzoyl	7.82(o), 7.48(m), 7.65(p)	8.08(o), 7.53(m), 7.63(p)
benzoyl'		7.78(o'), 7.34(m'), 7.52(p')
nicotinoyl	9.45(2'), 8.51(4') 7.41(5'), 8.99(6')	

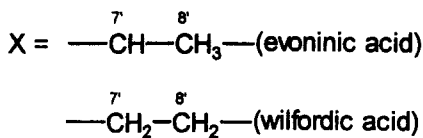
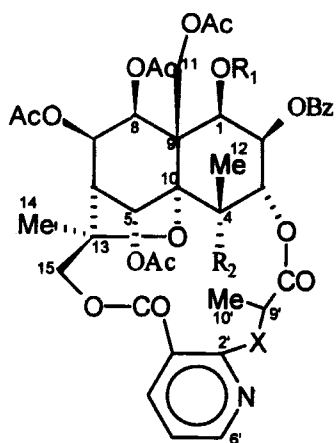
\* NMR were recorded in  $\text{CDCl}_3$  at 300 MHz. Multiplicity and coupling constants (J/Hz) given in parenthesis.

### 실험결과 및 고찰

Compound 1은 Dragendorff시약에 주황색으로 발색하는 무정형 분말로서 EI Mass에서 분자량이 914로 관찰된 분자식  $\text{C}_{27}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{17}$ 의 화합물이다. 이 화합물은  $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼상에서 4개의 acetyl기( $\delta$  1.51,  $\delta$  2.27,  $\delta$  2.36,  $\delta$  2.38), 1개의 benzoyl기( $\delta$  7.48(m),  $\delta$  7.65(p),  $\delta$  7.82(o)), 1개의 nicotinoyl기( $\delta$  7.41,  $\delta$  8.51,  $\delta$  8.99,  $\delta$  9.45)의 존재가 관찰되었으며, 1개의 tert. methyl기( $\delta$  1.72), 두 set의 독립된 oxymethylene수소( $\delta$  4.46,  $\delta$  5.73;  $\delta$  4.13,  $\delta$  5.35) 및 7개의 methine수소( $\delta$  2.59,  $\delta$  5.14,  $\delta$  5.57,  $\delta$  5.70,  $\delta$  5.88,  $\delta$  6.31,  $\delta$  6.94)가 각각 관찰되었다. 이와 같은 NMR자료

로부터 노박덩굴과 식물에서 흔히 발견되는 pyridine핵을 가진 sesquiterpene유도체를 기본골격으로 하는 알칼로이드 성분임을 알 수 있었다.<sup>5,6</sup> 또한 두개의 sec. methyl기( $\delta$  1.46,  $\delta$  1.57)와 이들과 각각 coupling하는 두개의 methine기( $\delta$  2.98,  $\delta$  4.31)가 관찰되므로서 2, 3-치환 pyridine핵( $\delta$  7.64,  $\delta$  8.17,  $\delta$  8.84)을 가진 evoninc acid임을 알 수 있었으며, 이것이 sesquiterpene핵의 3번과 15번 사이에서 diester형으로 15환을 이루고 있다. 그리고 구조내에 hydroxy기가 관찰되지 않고 sesquiterpene핵내에서 1개의 sec. methyl기( $\delta$  1.42)가  $\delta$  2.96의 methine수소와 coupling하는 것으로 보아 sesquiterpene핵은 dihydro- $\beta$ -agarofuran계 열로서 4-deoxy형의 euonyminol로 확인하였다. 이는 3번 수소가 2번과 4번 수소와 동시에  $J=1-2\text{Hz}$ 의 약한 coupling을 함으로써 brs형태의 피크를 나타내는 것으로도 확인할 수 있다.<sup>11</sup> 또한  $\delta$  1.51의 8-Ac로 추정되는 peak로부터 nicotinoyl기의 결합위치를 1번위치로 추정 가능성이 있는데, 이에 대한 근거로서 euojaponine I, L, M의 경우<sup>5</sup> 8번 탄소에 결합된 acetyl기가 1번에 결합된 nicotinoyl에 의한 anisotropy 효과에 의해 acetyl기로서는 매우 고자장에 해당하는  $\delta$  1.53~ $\delta$  1.58에서 관찰되었다. 한편 1번 탄소에 benzoyl기가 결합한 경우 8번 acetyl기는 항상  $\delta$  1.40~ $\delta$  1.42범위에서 관찰함을 이미 보고한 바 있다.<sup>5,6</sup> 그리고 지금까지 사철나무로부터 분리되어 보고된 모든 알칼로이드 성분의 방향성 acyl기는 benzoyl 및 nicotinoyl기로 한정되어 있으며 이들의 위치는 1번과 5번 탄소에 제한되어 발견이 되어 왔으나, compound 1의 경우 2번 methine수소가  $\delta$  5.88까지 저자장으로 shift하였는데, 이는 2번에 방향성 acyl기가 결합되어 있음을 알려주는 것으로 이와 같은 현상은 2번에 방향성 acyl기를 가지는 enenifoline W-I, W-II<sup>11</sup>, emarginatine F<sup>10</sup>, cangorinine W-I, W-II<sup>12</sup>와 일치하는 결과이다. 그리고 1번 및 2번에 동시에 방향성 acyl기가 결합한 경우 1번 methine수소가  $\delta$  6.1보다 더욱 저자장에서 관찰되는 것도 enenifoline W-I, W-II등의<sup>11</sup> NMR 자료로부터 확인할 수 있다. 따라서 benzoyl기의 위치를 2번으로 정하였으며, 한편 2번 위치에 acetyl기가 결합한 경우 2번 수소는 언제나  $\delta$  5.4보다 고자장에서 관찰된다. 따라서 최종적으로 compound 1의 구조를 Fig. 1와 같이 결정하였으며,  $^1\text{H-NMR}$  자료는 Table I에 나타내었다.

Compound 2는 Dragendorff시약에 주황색으로 발



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	X
Compound 1	nicotinoyl	H	CH-CH <sub>3</sub>
Compound 2	benzoyl	OH	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>

Fig. 1 — Structures of alkaloids from *Euonymus japonica*.

색하는 무정형 분말로서 EI Mass에서 분자량이 929로 관찰된 분자식 C<sub>48</sub>H<sub>57</sub>NO<sub>18</sub>의 화합물이다. 이 화합물은 <sup>1</sup>H-NMR스펙트럼상에서 4개의 acetyl기(δ 1.36, δ 2.15, δ 2.20, δ 2.23), 2개의 benzoyl기(δ 7.53(*m*), δ 7.63(*p*), δ 8.08(*o*); δ 7.34(*m'*), δ 7.52(*p'*), δ 7.78(*o'*)) 및 2개의 *tert.* methyl기(δ 1.70, δ 1.74), 두 set의 독립된 oxymethylene수소(δ 3.83, δ 5.82; δ 4.60, δ 5.63) 및 7개의 methine수소(δ 2.40, δ 5.15, δ 5.47, δ 5.54, δ 5.56, δ 6.11, δ 6.97)의 존재가 각각 확인되었다. 또한 서로 coupling하는 두개의 methylene 수소(δ 2.04, δ 2.43; δ 3.11, δ 4.04) 및 하나의 *sec.* methyl기(δ 1.25)와 methine수소(δ 2.42)가 존재함으로써 부터 2,3-치환 pyridine핵(δ 7.51, δ 8.47, δ 8.82)을 가진 이 염기성산이 wilfordic acid임을 알 수 있었다. Compound 2는 두개의 benzoyl기를 가지며 이들의 결합위치를 1번과 2번 탄소로 결정하였는데 이는 sesquiterpene핵의 1번 methine수소가 δ 6.11로 매우 저자장에서 관찰되고, 8번 위치의 acetyl기로 예상되는 peak가 δ 1.36에서 관찰되는 것으로 보아 1번과 2번위치에 동시에 방향성 acyl기가 결합되었을 것으로 추정하였다. 그리고 기타

5, 7, 8, 11번 위치에 acetyl기가 결합되어 있는 것으로 해석이 되며 이 모든 NMR자료가 Itokawa등이 *Maytenus ebenifolia*로 부터 분리하여 보고한 ebenifoline W-I<sup>11)</sup>과 일치하였다. 이들의 구조는 Fig. 1과 같으며 NMR자료는 Table I에 나타내었다.

### 결론

사철나무(*Euonymus japonica*)의 뿌리 껍질로 부터 ether가용 중성 및 염기성 분획을 제조하고 이로부터 실리카겔 칼럼크로마토그래피를 반복하고 최종적으로 HPLC를 이용하여 2종류의 알칼로이드성분을 분리하였다. NMR을 비롯한 각종 분광학적자료의 분석작업을 통하여 이들의 구조를 compound 1은 신물질로, compound 2는 *Maytenus ebenifolia*로 부터 분리된 e-benifoline W-I와 동일한 구조로 각각 확인되었다. E-benifoline W-I은 사철나무에서는 처음 분리된 구조이며 compound 2는 신물질로서 euojaponine N으로 명명하였다.

### 감사의 말씀

본 연구는 1996학년도 숙명여자대학교 교비 연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 문헌

- 1) 중약대사전, 상해과학기술출판사, 소학관련, 권삼, p. 175 (1985).
- 2) 이선주 : 민간약 개발에 관한 조사연구, 서울대학교 약학대학 (1972).
- 3) Kupchan, S. M., Komoda, Y., Court, W. A., Thomas, G. J., Smith, R. M., Karium, A., Gilmore, C. J., Haltiwanger, R. C. and Bryan, R. F. : Maytansine, a novel antileukemic ansa macrolide from *Maytenus ovatus*. *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 1354 (1972).
- 4) Beroza, M. : Alkaloids from *T. wilfordii* Hook-Wilforine and Wilfordine. *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 3656 (1951).
- 5) Han, B. H., Park, M. K., Ryu, J. H., Park, J. H. and Naoki, H. : Sesquiterpene alkaloids from *Euonymus japonica*. *Phytochem.* **28**, 2303 (1990).

- 6) Han, B. H., Ryu, J. H., Han, Y. N., Park, M. K., Park, J. H. and Naoki, H. : New sesquiterpene alkaloids from *Euonymus japonica*: Structures of euojaponines D, F, J and K. *J. Nat. Prod.* **53**, 909 (1990).
- 7) Ryu, J.-H., Ryu, S. Y., Han, Y. N. and Han, B. H. : Absolute configuration of  $\beta$ -agarofuran nucleus of euojaponine C by CD exciton chirality method. *Arch. Pharm. Res.* **20**, 76 (1997).
- 8) Gonzalez, A. G., Jimenez, I. A., Ravelo, A. G., Sazatornil, J. G. and Bazzocchi, I. L. : New sesquiterpenes with antifeedent activity from *Maytenus canariensis* (Celastraceae). *Tetrahedron*, **49**, 697 (1993).
- 9) Deng, F., Cao, J., Xia, Z., Lin, S. and Wang, X. : Studies on the sesquiterpene alkaloids of *Tripterygium wilfordii* Hook. F. *Acta Botanica Sinica*, **29**, 523 (1987).
- 10) Kuo, Y. H., King, M. L., Chen, C. F., Chen, H. Y., Chen, C. H., Chen, K. and Lee, K. H. : Two new macrolide sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus emarginata*: Emarginatine G and the cytotoxic emarginatine F. *J. Nat. Prod.* **57**, 263 (1994).
- 11) Itokawa, H., Shirota, O., Morita, H., Taketa, K. and Iitaka, Y. : Isolation, structural elucidation and conformational analysis of sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus ebenifolis*. X-ray molecular structure of ebenifoline W-I. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**, 1247 (1993).
- 12) Shirota, O., Otsuka, A., Morita, H., Takeya, K. and Itokawa, H. : Sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus chuchuhuasca*. *Heterocycles*, **38**, 2219 (1994).