

산해박의 配糖體에 관한 研究

李 欽 淑·韓 大 錫·康 圻 林*

서울대학교 藥學大學·圓光대학교 藥學大學*

Paeonol-glycoside of the Root of *Pycnostelma paniculatum* Kitagawa

Heum-sook LEE, Dae-suk HAN and Tak-lim KANG*

College of Pharmacy, Seoul National University and College of Pharmacy, Won-kwang University*

Paeonol-glycoside could be extracted and isolated from the fresh roots of *Pycnostelma paniculatum* Kitagawa and compared with paeonolide(paeonol-6-[L-arabinosyl]- β -D-glucoside) by IR and UV spectra. By saponification with mineral acid, it was known that isolated glycoside was composed of aglycon and sugar parts. Aglycon was identified by comparing with paeonol by TLC and UV spectra. Of two kinds of sugar, only glucose was identified by GLC.

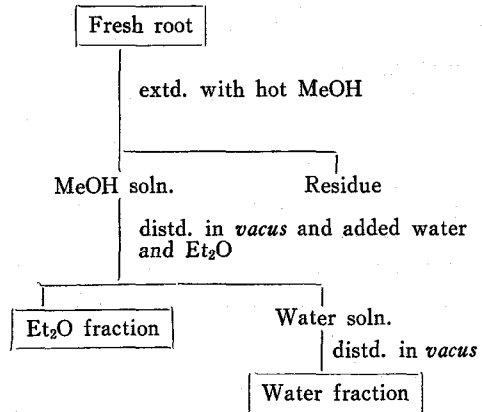
序 論

산해박—*Pycnostelma paniculatum* Kitagawa는 박주가리과 (Asclepiadaceae)에 屬하는 多年生草本으로써 우리나라 山野에 自生하고 있으며 그 뿌리를 國內에서는 漢藥의 白薇로 널리 使用하고 있다.¹⁾

산해박뿌리의 한 成分인 paeonol의 藥理作用에 關해서는 鎮痛, 消炎, 抗浮腫作用²⁾과 解熱, 利尿作用²⁾이 알려져 있다. 한편 芍藥屬(Paeoniaceae)의 여러 植物에 關한 研究들에⁴⁻⁷⁾ 의하면 paeonol은 配糖體狀態로서 存在함을 알 수 있다. 이 研究에서는 산해박뿌리의 paeonol이 配糖體로서 存在함을 確認하려는 目的으로 新鮮한 뿌리에서부터 配糖體를 分離하고 이를 加水分解하여 그의 糖質과 非糖質에 關하여 檢討하였다.

實驗 및 結果

實驗材料: 1975年 여름 京畿道 南楊州郡 柏峰一帶에서 採取한 新鮮한 뿌리를 MeOH로 추출



Scheme I. Extraction of *Pycnostelma paniculatum*

한 浸出液을 蒸發乾固시킨 後 蒸溜水와 Et₂O을 加해 Et₂O抽出物을 除去하고 水溶液을 減壓下에 蒸發濃縮시켜 試料로 하였다(Scheme I).

試料의 分離 및 確認: 水溶液을 減壓下에 濃縮하여 얻은 시럽狀의 物質을 n-BuOH:HAc:H₂O (4:1:5)*¹⁾의 展開溶媒를 使用하여 TLC하였다. 이때 한 plate위에 같은 試料를 2個 spotting하여 展開시킨 後 한쪽은 10% H₂SO₄*²⁾를 spray하고 다른 한쪽은 2,4-DNP*³⁾을 spray하여 發色시켜 分離된 여러 成分中 2,4-DNP에 의해 黃

색으로 發色되는 2個의 spot을 찾을 수 있었다 (Fig. 1). 또한 paeonolide(paeonol-6-[L-arabino-syl]-β-D-glucoside)와 試料를 위와같은 展開劑로 TLC하여 2,4-DNP로 發色되는 2個의 spot中 아래의 것이 paeonolide와 Rf值가 類似함을 알았다. 아래의 發色部分을 分離하고자 CHCl₃:MeOH:NH₄OH(65:35:2)의 溶媒를 使用하여 Silica gel GF 254를 500μ의 두께로 입힌 plate 위에 試料를 streaking하여 preparative TLC하고 UV scanning lamp에 의해 강한 紫色帶를 이루는 아래의 發色部分을 긁어내어 分離하였다. 分離한 Silica gel은 MeOH에 溶出시키고 濾過하여 그 濾液의 210nm~340nm에서의 吸收를 測定한바 paeonolide의 UV吸收⁹⁾와 一致하므로 이를 目的成分으로 하고 Scheme I와 같이 實驗을 進行시켰다. 더욱 많은 量의 試料를 同一한 方法으로 preparative TLC하여 分離한 成分을 모으고 이것이 單一成分임을 確認하기 위해 2次元 展開TLC를 行하였다. 이때 1次는 n-BuOH:HAc:H₂O(4:1:5)의 展開溶媒를 使用했고 2次는 CHCl₃:MeOH(3:1)의 展開溶媒를 使用하여 單一 stop가 發色됨을 確認하였다. 위에서 分離한 成分의 蒸發乾固物을 無水 EtOH에 녹여 數回 脫色精製하고 또 減壓乾燥器內에서 脫水시켜 無色透明한 粉末狀物質을 얻어 이것의 IR을 測定한 바 paeonolide와 spectrum의 特徵部分⁹⁾이 一致함을 알았다.

非糖質의 檢出: 위에서 얻은 粉末狀物質 약 20mg을 取하여 H₂O:Dioxane(1:1)의 5% HCl溶液 *4 5ml로 水浴中에서 6時間 加水分解시킨 後 Et₂O 약 20ml씩으로 3回 抽出하고 蒸溜水로 洗滌하여 모든 Et₂O分劃을 窒素氣流中에서 蒸發乾固시킨 後 MeOH에 溶解시켜 非糖部의 檢出試料로 하였다. 이 試料溶液은 1% FeCl₃ 水溶液*5에 의해 靑紫色을 나타내었다.¹⁰⁾ 또한 試料溶液을 標準品 paenol과 TLC를 行하여 一實實驗하였다. 溶媒는 n-BuOH:HAc:H₂O(4:1:5)와 CHCl₃:MeOH(3:1)을 使用하였고 發色劑¹¹⁾로는 anisaldehyde-sulphuric를*6 使用하여 試料와 標準品을 併行展開한 것은 發色劑에 의해 顯著하게 강한 赤色으로 發色됨을 認知할 수 있었다.

한편 試料溶液을 paeonol의 MeOH溶液과 UV 吸收를 比較한 結果 特徵 peak가 一致함을 볼 수 있었다.

糖의 檢出: 加水分解量物의 水層을 取하여 미리 活性化*7한 Amberlite IRA 410의 column을 2回 通過시켜서 酸을 除去한 後 anthrone反應을 보이지 않을 때까지 蒸溜水로 溶出시켜 그 溶離液을 모으고 減壓下에 回轉蒸發濃縮機를 使用하여 完全히 乾固시켰다. 이 乾固物의 一部를 소량의 MeOH에 溶解시키고 여러가지 標準糖과 함께 TLC를 行한 結果 glucose와 Rf值가 類似하였다. 이때 TLC에 使用한 plate는 Pifferi¹²⁾의 方法에 의해 Silica gel 30g을 0.02M Sod. acetate 溶液 60ml로 250μ의 薄層으로 입히고 105°C에서 45分間 活性化시켜 使用했으며 展開溶媒¹³⁾ n-BuOH:HAc:H₂O(4:1:5)는 를 使用하였다. 發色劑로는 thymol-sulphuric acid*8을 spray하여 120°C에서 15~20分間 加熱發色시켰다.

蒸發乾固物의 다른 一部는 無水 pyridine*9 0.5ml을 加하고 75°의 水浴中에서 3分間 加溫溶解하여 Sweely의 方法¹⁴⁾에 準하여 GLC*10를 行하였다. 檢體의 pyridine溶液에 hexamethyldisilazane 0.1ml와 trimethylchlorosilane 0.05ml를 加하여 30秒間 振湯 混和한 後 10分間 室溫에 放置하여 充分히 silylating시키고 OV-17을 充填한 3mm×2m의 glass column을 使用하여 GLC 하였다. 處理한 檢體는 2μl을 注入하였으며 感度는 1.6×10⁻⁹ a.f.s., scanning time은 5mm/min., flow rate는 80ml/min., detector temperature는 250°C, inisial temperature는 125°C, program rate 2°C/min., H₂ gas pressure는 0.85kg/cm², air pressure는 1.2kg/cm²의 條件으로 行하였다.

TLC하여 Rf值가 類似한 標準糖들도 같은 方法으로 處理하여 GLC한 結果 retention time 18分, temperature 157°C에서의 glucose의 peak가 試料 GLC의 한 peak와 一致함을 알았다. 試料에서 그외의 다른 peak는 GLC로 確認하지 못하였다.

*1. n-BuOH, HAc, H₂O를 各各 40ml, 10ml, 50ml를 加하여 흔들어 放置한 後 水層을 除去하고 난 上層을 使用하였다.

- *2. 濃黃酸 10ml을 蒸溜水 90ml에 조금씩 加하여 만들었다.
- *3. 2,4-Dinitrophenylhydrazine 100mg을 EtOH 100ml에 溶解시키고 36% HCl 1ml을 加하였다.
- *4. Dioxane과 H₂O가 15ml씩 混合되어 있는 液에 36% HCl 5ml을 加해 만들었다.
- *5. FeCl₃ 1g을 蒸溜水 100ml에 溶解시켜 만들었다.
- *6. Anisaldehyde 0.5ml, EtOH 9ml, c-H₂SO₄ 0.5ml와 HAc 0.1ml을 섞어 만들었다.
- *7. Amberlite IRA 410을 1N-HCl로 處理한 後 蒸溜水로 洗滌하고 다시 1N-NaOH로 活性化한 後 다시 蒸溜水로 洗滌하여 使用하였다.
- *8. Thymol 0.5g을 EtOH 95ml에 溶解시키고 c-H₂SO₄ 5ml을 加했다.
- *9. 試藥用 pyridine에 NaOH pellets를 適當量 加하여 pyridine에 含有된 水分을 完全히 除去하고 上澄液의 pyridine만 일정량 取하여 使用하였다.
- *10. Shimadzu Gas Chromatograph GC-4BM을 使用하였다.

結論 및 考察

산해박(*Pycnostelma paniculatum* Kitagawa)의 新鮮한 뿌리에서 paeonol配糖體를 單離하였고 이를 加水分解하여 그 非糖部에서 TLC 및 UV spectrum에 의하여 paeonol을 確認하였으며 糖部는 TLC 및 GLC를 行하여 glucose만을 確認할 수가 있었다. 이로써 산해박의 新鮮根에는 牡丹皮에서 抽出한 paeonolide와 그 非糖質이 같으나

糖단이 다른 paeonol配糖體가 存在함이 確認되었다.

本 研究를 보살피 주신 서울大學校 藥學大學의 李善宙教授, 糖의 標品을 分讓하여 주신 金泳根教授, 生藥研究所의 池亨浚教授께 감사드립니다.

參 考 文 獻

1. 韓昞承, 忠北大學 論文集, 1, 171 (1966)
2. M. Haraka and A. Yamashita; *Yakugaku Zasshi*, 92, 750 (1972)
3. S.J. Lee; 서울大學校 論文集, 自然科學, 18, 75 (1967)
4. G. Peron; *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 69, 476 C.A. 5, 707 (1911)
5. I. Yoshioka, T. Sugawara and K. Yoshigawa; *Chem. Pharm. Bull.*, 20, 2450 (1972)
6. H. Mitsuhashi, K. Hayashi and T. Nomura; *Chem. Pharm. Bull.*, 14, 779 (1966)
7. T. Kariyone, M. Takahashi and K. Takahashi; *Yakugaku Zasshi*, 76, 917 (1956)
8. E. Stahl; *Thin-Layer Chromatography*, 2nd ed. p. 871 (1966)
9. M. Takahashi, K. Osawa and T. Sato; *Tohoku Yakka Daigaku Kenkyu Nempo*, 45 (17), 25 (1970)
10. 刈米 達夫; 植物成分の化學, 6th. ed. p. 85 (1967)
11. E. Stahl; *Thin-Layer Chromatography*, 2nd. ed. p. 857 (1966)
12. P.G. Pifferi; *Anal. Chem.*, 37, 925 (1965)
13. T. Kariyone, M. Takahashi and K. Takahashi; *Yakugaku Zasshi*, 76, 920 (1956)
14. 丹波 渡, 池川 信夫; *Modern Gas Chromatography*, II, p. 685 (1969)