

高麗人蔘으로부터 폴리아세틸렌化合物의 간편한 分離方法

張碩九 · 高勳英 · 沈相哲*
韓國科學技術院 化學科
(1985年 12月 17日 接受)

A Simple Isolation Method of Polyacetylene Compounds from *Panax ginseng* C.A. Meyer

Suk-Ku Chang, Hun Yeong Koh, and Sang Chul Shim

Korea Advanced Institute of Science and Technology
P.O. Box 150 Cheongyangni Seoul 31, Korea
(Received Dec. 17, 1985)

Abstract

Polyacetylenes (conjugated poly-yenes) were isolated from the roots of *Panax Ginseng* C.A. Meyer by the low pressure preparative liquid chromatography and characterized by spectral analyses. The advantages of the isolation method are the simplicity of the isolation procedure and the much higher yield of poly-yenes compared to the old method.

緒 論

人蔘에 對한 化學的 研究은 1854年에 Garriques가 Saponin혼합물질인 Panaquilon을 美國產 人蔘으로부터 分離한 이래 藥理成分으로 알려지고 있는 Saponin에 對하여 集中的으로 研究 報告되고 있다. 그러나 Saponin以外的 成分에 對한 化學的 研究은 활발한 편이 못된다.

最近 人蔘의 藥理作用이 Saponin以外的 成分에 基因하지 않느냐는 問題가 종종 제기되고 있다¹⁾. 이러한 研究가 활발히 進行되려면 우선 人蔘의 成分에 對한 철저한 研究가 先行되어야 한다.

人蔘의 폴리아세틸렌成分에 關해서는 1964年에 Takahashi等에 依해 처음으로 研究보고되었고 Wrobel등이 새로운 폴리아세틸렌成分을 分離하였다^{2,3)}. 이들의 研究에서 볼때 人蔘에는 數種의 폴리아세틸렌成分이 있는 것으로 알려지고 있으며 이들 成分은 人蔘 特有的 芳香이 있을뿐 아니라 最近 高麗人蔘의 Petroleum ether分劃이 實驗管內에서 培養한 쥐의 白血病性 임파종양 L5178Y 세포와 쥐의 복수육종암 Sarcoma 180세포에 對하여 세포독성(cytotoxicity)이 있음이 報告되어 人蔘의 폴리아세틸렌成分이 抗癌作用을 할 가능성

이 있어 많은 關心의 대상이 되고 있다⁴⁾. 그러나 이러한 폴리아세틸렌成分에 對한 명백한 分光學的 자료나 確實한 化學的 구조는 이들 폴리아세틸렌 化合物들이 極少量 밖에 存在하지 않을 뿐만 아니라 매우 不安定하여 分離가 어려워서 明白하게 確立되어 있지 않다.

本 研究에서는 이렇게 量的으로 稀少한 폴리아세틸렌成分을 종전보다 쉽고 빠르게 分離하여 이들 化合物들의 구조 및 생리활성 연구를 돕고자 한다.

實驗方法

1. 材料

本 實驗에 使用된 人蔘試料은 6年生 水蔘으로 뿌리를 깨끗이 물에 씻어 건조시킨것이다. HPLC 溶媒는 HPLC用 n-헥산과 에틸에테르를 썼으며 使用前 膜필터를 통해 여과하였다.

UV스펙트럼은 Cary17 分光光度計를 利用하여 얻었고 赤外線스펙트럼은 Perkin-Elmer 283B grating spectro-meter를 使用하여 기록하였다. 陽性子 核磁氣共鳴(¹H-NMR) 스펙트럼은 Varian FT-80A NMR spectro-meter를 利用하여 CDCl₃ 용매에서 기록하였다.

2. HPLC를 이용한 分離

人蔘뿌리를 blender를 利用하여 잘게 부수고 메타놀로 추출한후 이것을 다시 Petroleum ether-ethyl ether(4 : 1v/v) 혼합용매로 추출하여 ether층을 감압농축한 후 고속 액체크로마토그래피로 分析하였다.

이때 使用한 조건은 Column : μ -bondapak CN, mobile phase : n-hexane-ethyl ether (20 : 1 v/v) flow rate : 1.2ml/min, Detector : UV(254nm)이었다.

3. Semi-preparative 액체크로마토그래피

HPLC分析때와 같이 시료를 준비하여 Stop-flow방법으로 시료를 주입하였다. Column: Lichroprep Si 60(40~63 μ m), mobile phase : n-hexane-ethyl ether(3 : 1v/v), flow rate: 5.0ml/min, Detector : UV(254nm).

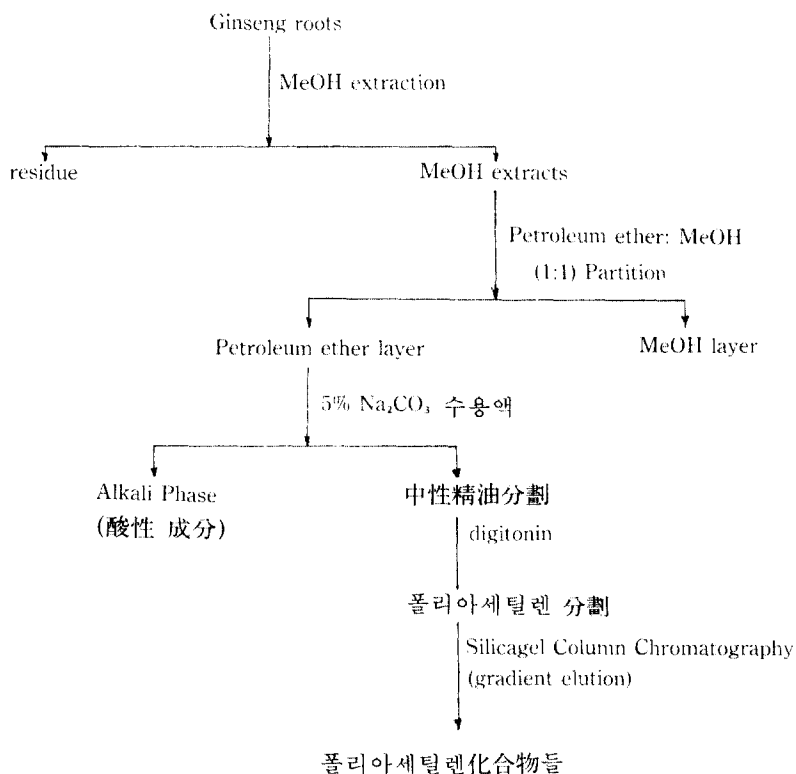
이렇게 分離한 폴리아세틸렌 化合物들은 Dry ice-acetone에 담근 병에 모으고 외부의 빛을 차단시키기 위해 알루미늄 foil로 싸서 보관하였다. 分離된 폴리아세틸렌은 HPLC로 분석 점검하였다.

4. 폴리아세틸렌化合物의 確認

分離한 폴리아세틸렌化合物들은 UV, IR, NMR, Mass spectra등 기기분석과 元素分析등을 利用하여 分析한 結果 이미 보고한 Heptadeca-1-en-4, 6-diyn-3, 9, 10-triol과 Heptadeca-1, 9-dien-4, 6-diyn-3-이임을 알았다⁵⁾.

結果 및 考察

종전에는 人蔘에서 다음과 같은 방법으로 폴리아세틸렌化合物들을 分離하였다⁶⁾.



위와 같은 방법을 쓰면 많은 시간이 소모될 뿐만 아니라 여러 종류의 시약이 다량 필요하고 또 Sample의 손실이 많으며 단일 물질로 分離하기가 매우 어렵다는 단점이 있다.

이와 같은 단점을 극복하기 위하여 본 研究에서는 low pressure liquid chromatography 방법을 사용하였다. Low pressure liquid chromatography는 HPLC에서 쓰는 1000~2000 psi 같은 고압대신 100~150 psi 程度の 壓力을 column chromatography에 이용하는 것으로 比較的 싼 값으로 실험실에 設置할 수 있는 장점이 있다. 이 장치의 개요를 Fig. 1에 간단히 圖視하였다.

종래에 쓰던 方法에서 silica gel column을 써서 Sample을 分離하기까지 4~5단계의 조작후 곧 low pressure preparative liquid chromatography 方法을 쓰기 때문에 많은 시간이 절약되고 시약 및 용매가 절약되며 分離성능이 좋아 化合物의 損失을 막을 수 있다. 새 方法을 간략히 도시하면 다음과 같다.

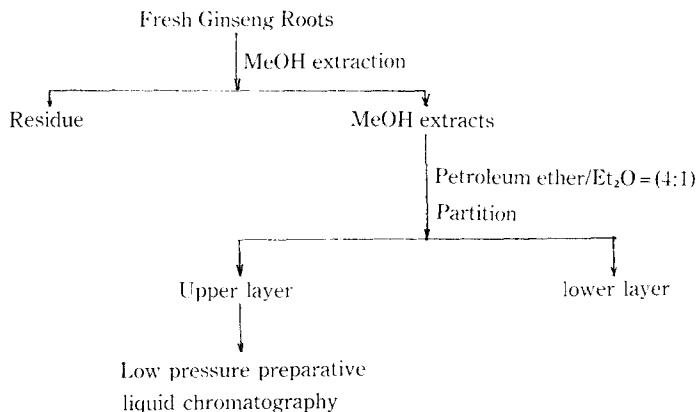
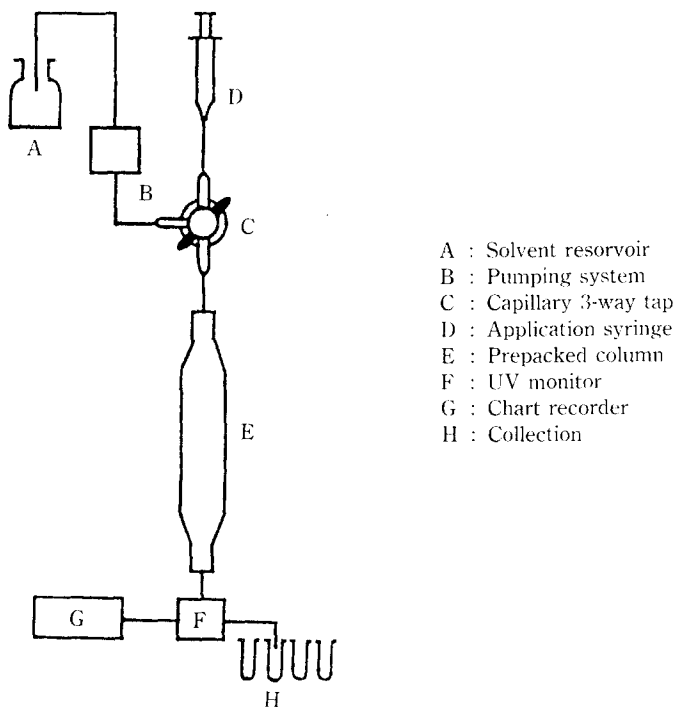


Fig. 1. Diagram of low pressure preparative liquid chromatography.



이러한 방법으로 분리하여 low pressure preparative chromatography를 시행한 결과 다음과 같은 간단한 chromatogram을 얻었다 (Fig. 2).

종래의 방법과 개선된 방법으로 준비한 시료를 HPLC로 분석한 크로마토그램은 다음과 같다(가장 오른쪽이 개선된 방법)(Fig. 3).

이 개선된 방법을 이용하여 韓國産 人蔘 뿌리 6kg으로부터 純粹한 A-1 8mg과 B-1 12mg을 얻을 수 있었다. 이 방법은 종래의 prep. TLC나 古典的 액체크로마토그래피에 비해 再現性이 높고 分離能이 훨씬 뛰어나 시료, 용매, 時間, 努力을 모두 절감시켜 주는

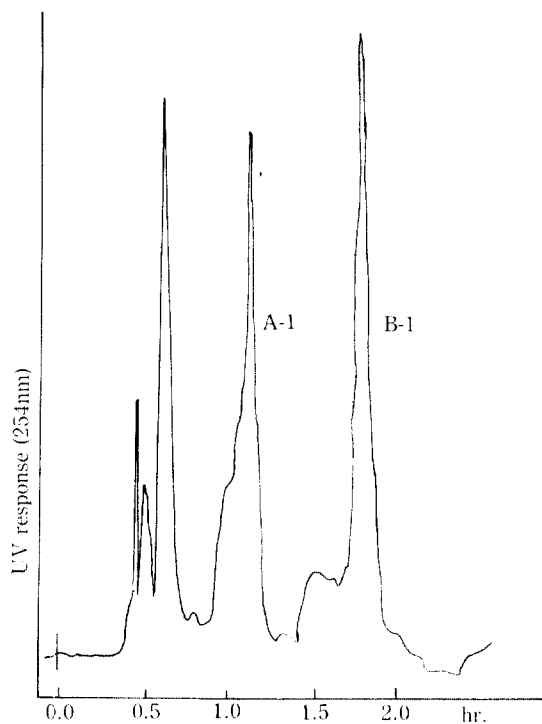


Fig. 2. Chromatogram of low pressure preparative chromatography.

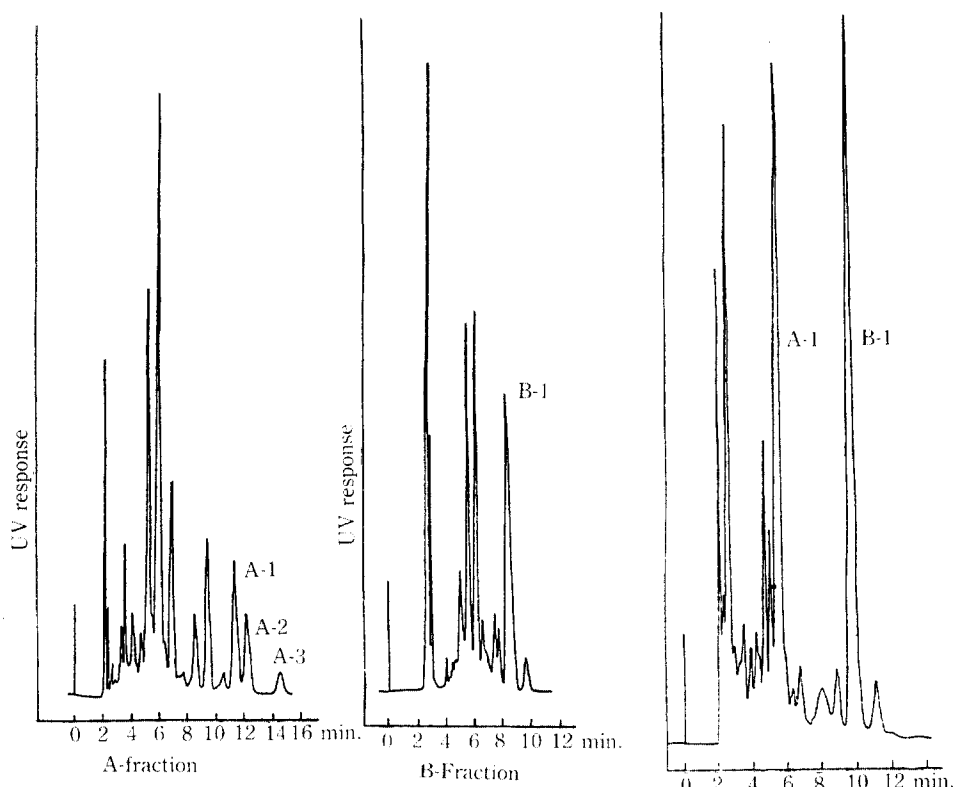


Fig. 3. HPLC chromatogram of polyacetylenes in ginseng.

A-1: Heptadeca-1, 9-dien-4,6-diyne-3-ol.

좋은 方法으로써 人蔘中 不安定하고 미량으로 存在하는 폴리아세틸렌精油成分 分離 및 分析에 아주 有用함이 증명되었다.

要 約

韓國產 水蔘으로부터 低壓 液体크로마토그래피를 利用하여 conjugated poly-yne(폴리아세틸렌)精油成分을 分離 同定하였다. 이 方法은 종래의 方法에 比해 과정이 간편할 뿐 만 아니라 폴리아세틸렌을 더욱 純粹하게, 더욱 높은 수득률로, 그리고 더욱 빨리 分離할 수 있는 利점이 있다.

謝辭 · 本 研究는 1984年度 高麗人蔘學會 研究補助費로 이루어진 것으로 高麗人蔘學會에 感謝드립니다.

引 用 文 獻

1. Han, B. H.: Preceeding of 2nd International Ginseng Sym. P.13 (1978).
2. Takahashi, M., K. Isoi, M. Yoshikura, and T. O. Surgi: 일본약지 84, 752 (1964).
3. Wrobel, J. T., Z. Dabowski, H. K. Gielzynska, A. Iwanow, K. Kabzinska, J. Poplawski and J. Ruzzkowska: *Pluszcze Srodki Piorace Kosmet.* 17, 163 (1973).
4. 황우익, 오수경 : 고려인삼학회지 8(2), 153(1984).
5. 심상철, 고훈영, 한병훈 : *Phytochemistry* 22(8), 1817 (1983).
6. 한병훈, 송병준, 노환성 : 생약학회지 7(3), 191(1976)