

## 韓國茵陳成分과 그 誘導體에 關한 生物化學的研究 I

### Esculetin-6 및 7-methylether 의 同定과 그 膽汁分泌促進作用

韓 德 龍\*

(Received September 15, 1966)

Duk Ryong Hahn: Biochemical Studies on the Constituents of *Artemisia messer-schmidtiana* Besser var. *viridis* Besser and their Derivatives. I. Identification of Esculetin Methylethers and their Chologogic Action.

Pharmacological principles were isolated from *Artemisia messer-schmidtiana* BESSER var. *viridis* BESSER which has long been used as a cholagogic drug. These substances were identified as esculetin-6-methylether and esculetin-7-methylether and the latter has not yet been found in nature. Both of them possess cholagogic activity.

韓國茵陳 *Artemisia messer-schmidtiana* BESSER var. *viridis* BESSER (f. *typica* NAKAI)의 地上部는 漢方에서 解熱, 膽汁分泌促進劑로 應用하고 있다.

中國<sup>1)</sup>이나 日本에서는 같은 目的에 同名漢藥으로서 *Artemisia capillaris* THUNBERG 로 充當하고있어 花部는 茵陳蒿(Intin-Koo), 葉部는 綿茵陳이라하여 應用하고있으며 우리나라에서는 사철쑥이라고 불리우나 實際에 있어서는 이것이 이용되지않고 標題植物인 더우지기가 利用되고있다.

文獻調査에 의하면 *Artemisia capillaris* THUNBERG 에 대해서는 今井 池田 管原<sup>2-4)</sup>등이 精油를 分離하여 antifungal activity 를 研究했으며 그 有效成分인 capilline 을 分離하였고 이들의 抗菌性<sup>5, 6)</sup>에 대해서도 報告하였다. 岡本<sup>7)</sup> 原田<sup>8, 9)</sup>는 capillene, capillone 의 化學構造에 대해서 世良, 澁江<sup>10-11)</sup>등이 그 果實成分은 esculetin 6-, 7-dimethylether 임을 밝힌바 있고 湯川 湯川<sup>12)</sup>는 植物抽出液의 腸管運動抑制作用, 膽汁分泌促進效果에 대해서 報告한바있으나 韓國茵陳의 有効性與否및 그 成分에 대해서는 지금까지 一切 밝혀지지 않고 있다.

著者は 韓國茵陳(莖葉)의 MeOH-extract 가 動物試驗에서 膽汁分泌促進作用이 있음을 確認하고 有效 成分의 本體를 究明코져 本實驗을 試圖하였다.

材料植物의 MeOH-extract 를 實驗記載의 順序에 따라 處理하여 m.p. 205° 의 針狀結晶 (I)과 m.p. 178° 의 針狀結晶(II)을 얻었다. I 및 II는 兩者가다 質量分析에 의한 分子量

\* College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, Korea

値는 192이며 元素分析에 依하여 分子式  $C_{10}H_8O_4$  을 얻었다

I 및 II는 알칼리에 잘 녹으며 黃色으로 呈色하는 同時에 靑色의 螢光을 나타내고, 酸性으로 하면 元物質을 析出한다.

$FeCl_3$  試藥의 添加에 對해서는 綠色으로 呈色하고 中性醋酸鉛溶液에 의해서는 反應液이 黃色으로 呈色하고 이어 黃色沈澱을 生成한다.

I 및 II는 Zeisel 法에 의한 methoxyl 基測定結果 1個(15.68%)의 methoxyl 基가 存在하며 I 및 II는 常法에 의해 acetyl 化했을때 I은 m.p.  $177^\circ$  의 monoacetate를, II는 m.p.  $161^\circ$  의 monoacetate를 形成한다.

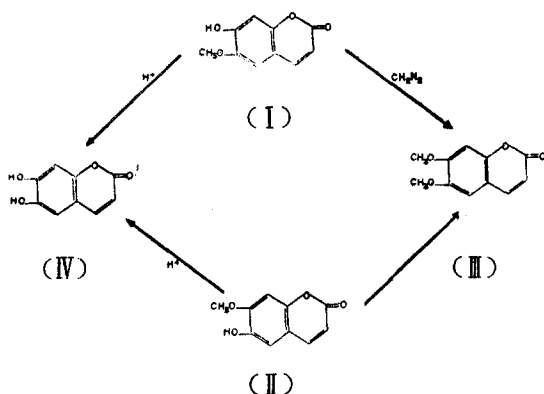
I 및 II는 OH基의 定量에 의해 分子內에 OH 基가 1個(11.3%) 存在함도 確認하였다.

I 및 II에 대한 I.R. spectrum(KBr)에 의해 分析된 結果는  $845^{-1}cm$ 의 coumarin 2 置換體,  $3300\text{ cm}^{-1}$ 의 hydroxyl 基,  $1500\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ 의 芳香核,  $1700\text{ cm}^{-1}$  附近의 lactone,  $1500\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 의 pyron 核의 特性吸收등에 의한 所見과 위에서 言及한 여러가지 化學的인 態度로 보아 I, II는 coumarin 2 置換體임이 豫測된다.

I, II는 diazomethane의 ether 飽和液에 의한 methylation에 의해 共히 m.p.  $146^\circ$ 의 dimethylether (III)이 生成되며 III은 esculetin dimethylether와 混融하여도 融點의 降下가 없으며 HI에 의한 脫 methyl 化에 의해서 m.p.  $270^\circ$ 의 脫 methyl 化合物 (IV)을 生成한다. IV는 esculetin과 混融하여도 融點의 降下가 없다.

以上の 結果로 보아 I과 II는 esculetin의 6番炭素와 7番炭素 사이에 있어서의 位置異性體임이 豫測되며 이는 I.R. spectrum의 coumarin 2 置換體의 吸收帶의 存在와도 符合한다.

한편 이러한 異性體의 相關關係를 合成에 의해 解明하기 위하여 Seka<sup>13)</sup> 등의 方法에 의해 合成한 esculetin-6-methylether 및 esculetin-7-methylether는 各各 I, II와 混融試驗했을 때 融點의 降下가 없었다. 따라서 m. p.  $205^\circ$ 의 物質은 esculetin-6-methylether이며 m.p.  $178^\circ$ 의 物質은 esculetin-7-methylether 임을 確認하였다.



I은 여러種의 植物에서 分離되어 있으나 II는 文獻上, 合成記載는 있어도 植物에 分離되었다는 記錄은 없다.

I과 II는 개에 대한 利膽試驗에서 膽汁의 分泌를 促進시켜주므로 標題植物의 利膽成分을 確認하였다.

Table I. Influence of coumarin compounds on bile flow rate (dog)

Coumarin compounds and bile salts	Amount of bile juice excreted at 10 minutes interval (ml)				
	0'~10'	10'~20'	20'~30'	30'~40'	40'~50'
normal flow	0.9	0.9	0.9	0.9	0.95
	0.95	0.9	0.85	0.85	0.85
	1.0	0.95	0.9	1.0	1.05
	0.9	0.85	0.8	0.85	0.85
	av. 0.95	0.9	0.87	0.90	0.92
I	1.9	1.75	1.7	1.4	0.95
	1.7	1.85	1.8	1.5	0.90
	1.85	1.8	1.65	1.5	1.0
	1.85	1.8	1.70	1.4	0.95
	av. 1.85	1.8	1.7	1.45	0.95
II	2.0	1.9	1.8	1.5	1.0
	1.9	1.8	1.7	1.4	0.9
	2.0	1.8	1.65	1.3	1.0
	1.9	1.9	1.7	1.3	1.1
	av. 1.95	1.82	1.7	1.35	1.0
V	2.8	1.8	1.6	1.4	1.1
	2.6	1.7	1.7	1.3	0.9
	2.7	1.8	1.6	1.3	1.0
	2.7	1.7	1.5	1.2	1.0
	av. 2.7	1.75	1.7	1.4	1.0
VI	2.5	2.3	2.0	1.5	1.2
	2.6	2.2	1.8	1.4	1.1
	2.5	2.3	1.9	1.4	1.2
	2.4	2.2	1.9	1.35	1.3
	av. 2.5	2.25	1.9	1.4	1.2

I. esculetin-6-methylether

II. esculetin-7-methylether

V. sod. taurocholate

VI. sod. desoxycholate

Data shows the amount of bile juice excreted at definite intervals (0'~50') after intravenous injection of I and II (1 mg/kg) including of bile salts (IV, V 10 mg/kg) and normal flow

## 實 驗

**Esculetin-6 및 7-methylether 의 分離**—Barton<sup>14)</sup>, Konte<sup>15)</sup> 등의 方法에 의해 韓國茵陳 20 kg 을 MeOH 로, 抽出液이 螢光을 나타내지 않을때까지 反覆抽出하고 減壓下에 溶媒를 溜去, 濃縮하고 그 殘渣를 Me<sub>2</sub>CO, EtOAc 의 順으로 浸出한 다음 濃縮物을 pentane 으로 處理하여 色素와 脂肪分을 除去한다. 이어서 그 不溶部를 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(1:4)混液으로 浸出하여 中性 alumina column 에 吸着시킨後 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(1:3)混液으로 elution 하여 溶出液을 濃縮했을 때 生成되는 結晶을 濾取, 60% MeOH 에서 再結晶하여 m.p. 205°의 無色針狀結晶 I. 5.0g 을, 그 母液에서는 m.p. 178°의 針晶 II. 1.0g 을 얻었다.

*Anal.* calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (I) : C. 62.50; H. 4.2; OCH<sub>3</sub>. 16.15; Mol. wt., 192.16.  
found: C. 62.98; H. 4.15; OCH<sub>3</sub>. 15.68(Zeisel); Mol. wt., 192 (Mass spectrum).

*Anal.* calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (II) : C. 62.50; H. 4.2; OCH<sub>3</sub>. 16.15; Mol. wt., 192.16  
found: C. 62.80; H. 4.18; OCH<sub>3</sub>. 15.87(Zeisel); Mol. wt., 192 (mass spectrum).

I.R.(KBr) cm<sup>-1</sup> 1400, 1500, 1580, 1610. (aromatic). 845 (1.2.4.5-substitute). 1705 (C=O) 2900, 2948, 3000 (-OCH<sub>3</sub>). 1720 (six membered ring ketone). 3325 (-OH).

**Acetyl 化**— I. 0.2g 을 취하여 常法에 의해 acetyl 化하여 m.p. 177°의 無色針晶(a)를 얻었으며 同一한 方法으로 II. 0.2g 을 취하여 acetyl 化하여 m.p. 161°의 無色針晶 (b)을 얻었다.

*Anal.* calcd. for  $C_{10}H_7O_3(CH_3COO)$ (a) C. 61.41; H. 4.25; found. C. 61.80; H. 4.14

*Anal.* calcd. for  $C_{10}H_7O_3(CH_3COO)$ (b) C. 61.41; H. 4.25; found. C. 61.12; H. 4.32

一方 常法에 의한 OH基의 定量에 의해 11.3%임을 證明하였다.

**Methylether 의 合成** — Vogel<sup>16)</sup>의 方法에 의해 I. 0.2g 을 취하여 methylation 하여 I의 methylether(III) 120mg 을 얻어 60%MeOH 에서 再結晶하여 m.p. 146°의 針晶을 얻었다.

III은 esculetin dimethylether 와 混融하여도 融點의 降下가 없다. 同一한 方法에 의해 II. 0.1g 을 methylation 해서 얻은 物質도 esculetin dimethylether 로서 III 과 混融하여도 融點의 降下가 없었다.

**Demethylation** — I. 約 0.5g 을 취하여 HI 5ml 를 加하고 CO<sub>2</sub>를 通하면서 110~140°로 1時間 加熱分解後 濃縮하여 冷稀알칼리에 溶解하는 部分을 모아 冷却하면서 稀鹽酸을 加한後 放冷해서 析出되는 物質을 捕集하여 EtOH 에서 再結晶하여 m.p 270°(decomp.)의 無色結晶(IV) 0.12g 을 얻었다.

*Anal.* calcd. for  $C_9H_6O_4$ : C. 60.66; H. 3.40. found: C. 60.45; H. 3.46.

IV는 標品 esculetin 과 混融하여도 融點의 降下가 없다. II 에 대해서도 同一하게 操作하여 I의 結果와 一致함을 確認하였다.

**Esculetin-6-methylether 및 7-methylether 의 合成** — esculetin methylether 는 Seka 등의 方法<sup>13)</sup>에 의하여 esculetin 1.5g에 acetobromoglucose 를 作用시킴으로서 glycoside 의 混合物을 合成하고 이混合物自體 0.4g 을 diazomethane 으로 methyl 化하여 methylated glucoside 의 混合物을 얻고 이混合物 0.2g 을 2.5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 加水分解하여 加水分解產物에서 column chromatography 에 의한 分割 結晶에 의해 m.p. 205°인 esculetin-6-methylether 와 m.p 178°인 esculetin-7-methylether 를 얻었다. 前者는 I 과, 後者는 II 와 各各 混融試驗했을때 融點의 降下가 없었다.

**膽汁分泌促進試驗.** — 10kg 以上の 개를 사용하여 膽管插管法에 의해 膽汁分泌量을 比較實驗하였다. 檢體는 體重 1kg當 1mg씩 pH 9의 phosphate buffer 에 녹혀 施行하였다.

I, II 各 1mg/kg 靜注했을 때의 膽汁의 分泌量은 注射後 50分間의 實驗에서 normal flow 에 비해 I 및 II 는 最初 10分間에 100% 以上, 50分間의 全體分泌量은 平均 60% 以上の 促進效果가 있음을 確認하였고 그 結果는 Table I 과 같다.

## 結 論

1. 韓國茵陳의 膽汁分泌促進成分은 esculin-6-methylether 와 esculetin-7-methylether 임을 밝혔다.
2. 이들 兩物質의 膽汁分泌促進效果는 거의 同効이고 normal flow 에 대해 最初 10分間은 100%內외의 分泌促進效果를 表示한다.
3. esculetin-6-및-7-methylether 는 本植物에서 처음으로 分離되었으며 特히 後者는 植物에서 分離되었다는 記錄이 없다.

本研究을 指導하여 주신 韓龜東教授께 感謝드리며 아울러 禹麟根教授께, 元素分析을 擔當해 주신 日本의 三橋 博教授, 質量分析을 擔當하여 주신 奧田 重信教授께 또한 感謝드리는바이다.

## REFERENCES

1. 大衆書局刊 古今中藥集成, 282 (1957)
2. 今井 等, 日藥誌, **76**, 397 (1956)
3. 今井 等, 日藥誌, **76**, 400 (1956)
4. 今井 等, 日藥誌, **76**, 405 (1956)
5. 今井 等, 日藥誌, **76**, 862 (1956)
6. 今井 等, 日藥誌, **75**, 1005 (1955)
7. 有馬, 岡本, 日化誌, **51**, 781 (1930)
8. 原田, 日化誌, **75**, 727 (1954)
9. 原田, 日化誌, **77**, 990. 1036 (1956)
10. 世良, 澁江, 日農化, **6**, 600 (1930)
11. 世良, 澁江, 日農化, **6**, 1003 (1930)
12. 湯川 等, 實驗消化器病學, **3**, 139 (1929)
13. R. Seka und P. Kallir, *Ber.*, **64**, 909 (1931)
14. D.H. Barton, *et al.*, *J. Chem. Soc.*, **1958**, 963
15. F. Konte, *et al.*, *Naturwissenschaft*, **45**, 390 (1958)
16. A.I. Vogel, *A text book of pract. org. chem.*, 970 (1958)