

Bupleurum falcatum L. 中の Polyacetylene 系 化合物에 關한 研究

崔秉箕

(Received November 12, 1974)

Byung Ki Choi: Isolation of the Polyacetylenic Compound
from *Bupleurum falcatum* L.

Abstract—A polyacetylenic compound was isolated from the subterranean parts of *Bupleurum falcatum* L. (Umbelliferae) and its structure was elucidated as pentadecadiene-(2,9)-diyn-(4,6)-ol(1) acetate.

漢方에서 大柴胡湯, 小柴胡湯 및 桂枝柴胡湯 등에 處方되어 解熱 또는 抗炎, 鎮痛의 目的으로 繁用되고 있는 柴胡의 藥效에 對하여 最近 抗炎活性이 注目되어 그 有效成分으로써 saponin 成分에 對한 Shibata 等^{1,2)}의 化學的 研究 및 Takagi 等^{3,4)}의 藥理學的 研究가 報告되고 있다.

한편 Bohlman 等⁵⁾은 *Bupleurum ranunculoides* L. (Umbelliferae) 等 植物로부터 8 種에 達하는 polyin 系化合物을 單離하여 報告한바 있고 Reisch 等⁶⁾은 polyin 系化合物의 一部에 對하여 抗炎活性이 있는것으로 報告하고 있는 點으로 보아서 柴胡의 抗炎活性 有效成分으로 saponin 以外的 成分, 特히 polyin 系化合物에 對한 檢討가 要請되었다.

著者는 韓國產 柴胡(*Bupleurum falcatum* L.)의 petroleum ether-ether 混合溶媒 可溶部에 對한 thinlayer chromatography (TLC)에서 4 種의 polyin 系化合物이 含有되어 있음을 認知하였고 이들 成分中의 한 成分을 分離하여 그 化學構造를 檢討한 結果, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2(\text{C}\equiv\text{C})_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{OCOCH}_3$ (I)가 含有되어 있음을 밝혔다.

柴胡의 petroleum ether-ether 抽出物을 TLC에서 柴外線-螢光法으로 檢出하면 R_f 0, 0.18, 0.32, 0.40, 0.50, 0.75, 0.90의 spot가 있는 chromatogram이 얻어진다.

R_f 0, 0.18, 0.40, 0.90의 spot는 preparative TLC로 分離한 結果 polyacetylene 系化合物

From the National Institute of Health, Seoul, Korea.

에 特徵的 微細構造를 갖인 UV曲線(band space: 2000 cm^{-1})을 나타내었고 이들 polyacetylene系成分들 中에서 Rf 0.40되는 成分을 column chromatography에 依하여 分離한 成分의 UV曲線은 polyacetylene特有의 band space를 갖인 6個의 最大吸收波長(以下 λ_{max}) 284.2, 267.5, 253.1, 240.4, 229.0, 214.2nm을 나타내었다. 그 IR spectrum에서 1740 cm^{-1} 및 1228 cm^{-1} 에 依하여 acetyl group이 確認되고 그外 1720 cm^{-1} 및 1685 cm^{-1} 에 carbonyl吸收가 보인다.

이 成分을 Girard T 試藥⁷⁾으로 處理하여 얻은 ether可溶部의 IR spectrum은 1720 cm^{-1} 및 1685 cm^{-1} 의 吸收가 消失되는 反面 2248 cm^{-1} 에는 unsymmetric acetylene의 吸收가 그대로 殘存하고 또 polyacetylene 特有의 微細構造를 갖는 UV spectrum이 얻어지므로 column chromatography에 依하여 精製된 成分은 polyacetylenic acetate系成分과 carbonyl compound의 混合物이다. Girard T 試藥 處理에 依하여 carbonyl impurities를 除去시킨 다음에 얻어진 物質 (I)의 UV spectrum에서 band group difference($\Delta\log E(S-L)$)는 Table I⁸⁾에 對比되어 있는 바와 같이 diyne-ene-chromophore로 歸屬된다.

Table I-Bandgroup differences and longest wavelength range of a few polyacetylenic chromophores.

En: In	$\Delta\log E(S-L)$	λ_{max} range of longest wavelength
B*	0.5	284.2
0:3-5	3.9~2.4	513~304
1:5	1.5~1.4	410
1:4	1.3~0.9	509~372
1:3	1.6~0.9	450~325
1:2	0.5~0.1	295~279
1:1	0.5~0	374~332
2:5	1.3	433
2:4	1.3~1.1	397~382
2:3	0.7~0.4	375~332
2:1	0.2~0	367~337
3:4	0.8	402
3:2	0.3~0	365~303

*Partial structure.

Diyne-ene-chromophore를 推定하는 追加資料로써 이 物質의 IR spectrum에 나타난 3035, 1660 및 970 cm^{-1} 의 trans-disubstituted band의 吸收를 들수 있다.

I의 NMR spectrum에서 0.89(CH_3-) 및 1.11($-\text{CH}_2-$)는 saturated aliphatic tail의 methyl 및 methylene基, 1.90(3H, s)에 한 개의 $\text{CH}_3-\text{C}-$, 2.90 (2H, d, $J=5$)는 $\text{C}=\text{O}$

$\text{CH}_2-\text{CH}=\text{基}$, 4.65(2H, d, $J=6$)는 $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-$ 의 methylene proton, 5.33~6.17



의 multiplet는 olefinic proton으로 歸屬된다. 3.2~4.0에서 遊離水酸基 또는 ether結合에 基因하는 oxymethine 또는 oxymethylene proton의 signal을 볼 수 없고 그 IR spectrum에서도 遊離水酸基의 吸收는 나타나지 않는다.

따라서 含酸素官能基로서 1個의 acetoxy基($\delta:1.90$) 以外の 것은 생각할 수 없고 이 物質의 mass에서 觀察된 molecular peak m/e 258로 부터 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$ 가 얻어진다.

以上の 結果를 綜合하면 이 分子中에는 다음과 같은 部分構造가 있음을 생각할 수 있다.

A : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n$ $n=4$, **B** : $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2(\text{C}\equiv\text{C})_2\text{CH}=\text{CH}-$, **C** : $=\text{CHCH}_2\text{O}-\text{C}-\text{CH}_3$



I을 alcohol性 KOH로 비누화하여 얻은 alcohol의 UV spectrum은 **I**의 UV spectrum과 同一하였다. Alcohol을 活性 MnO_2 로 酸化하여 얻은 物質은 2,4-dinitrophenylhydrazine과 反應하므로 이 物質의 carbonyl基가 生成되어 있음을 뜻하고 이 物質의 UV spectrum은 λ_{max} 313.7, 295.1, 279.0, 229.0, 215.2nm가 觀測되고 있는데 이 spectrum에서 注目할 點은 **I**의 UV spectrum에 比하여 最長波長의 λ_{max} 가 29.5nm의 bathochromic shift가 일어났고 S-band와 L-band의 intensity는 同水準으로 增大되었는데 이 吸收曲線의 特性들은 trans-dec-2-ene-4,6-dial⁹⁾의 吸收曲線이 나타내는 諸般特性和 合致되므로 새로 생긴 carbonyl chromophore는 diynene chromophore에 conjugation된 것으로 推定된다.

이 alcohol의 IR spectrum에서 1689cm^{-1} 및 2735cm^{-1} 의 吸收는 α,β -unsaturated aldehyde基로 歸屬된다.

Aldehyde를 sodium borohydride로 還元하면 alcohol의 酸化過程에서 不飽和結合의 酸化는 일어나지 않았던것으로 생각한다. 따라서 部分構造 **C**는 **B**의 右側에 結合되어 있고 이 成分의 化學構造는 **I**로 推定된다.

Yosioka等¹²⁾은 Umbelliferae植物中에서 polyacetylenic compound를 檢索할時 *Bupleurum falcatum* L.에서 *n*-hexane으로 抽出한 crude extract를 直接 取하여 測定한 IR spectrum所見上 檢索되지 않는 것으로 報告되고 있는데 著者와의 結果가 相異한것은 抽出溶媒, 檢索方法 또는 檢體의 產地別差에서 基因되는것이 아닌가 생각된다.

實 驗 方 法

UV spectrum은 peroxide free ether를 溶媒로 使用하고 Beckman Automatic Recording Spectrophotometer Model DK에 依하여 測定하였다. IR spectrum은 CCl_4 를 溶媒로 使用하고 Beckman Spectrophotometer IR-4를 使用하였고 NMR의 測定은 CCl_4 中에서 tetramethylsilane을 標準物質로 하여 Varian Model H60을 使用하여 測定하였다.

Mass spectrum은 JEOL, JMS-OISG-2를 사용하여測定하였다.

사용된 모든 溶媒는 N_2 gas로 deaeration 시켰다.

Polyacetylene의 抽出—約 2.2kg의 陰乾한 柴胡(*Bupleurum falcatum* L.)의 地下部를 粗末로 粉碎하고 褐色瓶中에서 petroleum ether : ether(1 : 1)로 2회 冷浸하고 N_2 氣流下에서 減壓濃縮(30°, water bath)하여 「petroleum ether extract」約 200g을 얻었다. 이 extract는 Silicagel GF₂₅₄로 TLC(petro. ether : ether=9 : 1)를 施行한 바 紫外線-螢光法으로 9個의 斑點(Rf; 0, 0.12, 0.18, 0.32, 0.40, 0.50, 0.75, 0.83, 0.90)을 나타냈으며 5% 4,4'-nitrobenzyl pyridine acetone溶液을 spray한 다음에 110°에서 10分間 加熱하면 6個의 褐色 斑點(Rf; 0, 0.12, 0.18, 0.40, 0.75, 0.90)이 나타난다.

Preparative TLC(20×20cm, 1枚)를 施行하여 紫外線-螢光法에서 黑色斑點으로 檢出되는 成分들을 單離할때 그 UV spectrum은 Rf 0, 0.18, 0.40, 0.90의 成分만이 polyacetylene 特有的의 微細構造(band space; 2000cm⁻¹)를 갖는다.

Polyacetylene의 分離 및 精製—Petroleum ether extract 約 20g을 Silicagel 60를 사용하여 column chromatography하였다. Ether을 첨가(0.5~50%) petroleum ether로 gradient elution을 하였고 20ml式 fractionation하여 Fr. 152~267에서 polyacetylene成分(Rf 0.4)을 얻었다. 同條件에서 이를 rechromatography하면 그 UV spectrum의 微細構造에 나타난 分解能이 增進되었다. UV $\lambda_{max}^{Et_2O}$ nm; 284.2, 267.5, 253.1, 240.4, 229.0, 214.2. IR $\nu_{max}^{CCl_4}$ cm⁻¹; 2715(-CH), 2248(C≡C), 1740(C=O), 1720(C=O), 1685(C=O), 1223(C-O-C) 이 成分 40mg을 Girard T試藥⁶⁾ 130ml에 溶解시키고 室溫에서 24時間 放置하여 反應시킨 다음에 250ml의 물을 加해 稀釋시킨 다음에 peroxide free ether 800ml로 3회 抽出하고 Na_2SO_4 로 脫水한 다음에 N_2 氣流下에서 蒸發乾涸한다. 淡黃色 粘稠한 油狀液體. 收量 約 38mg. bp(常壓下에서 測定不能). n_D^{25} 1.4624. UV $\lambda_{max}^{Et_2O}$ nm; 284.2, 267.5, 253.1, 240.4, 229.0, 214.2. IR $\nu_{max}^{CCl_4}$ cm⁻¹; 2240(C≡C), 1740(C=O), 1223(C-O-C). NMR (in CCl_4) δ ; 0.89(triplet-like, CH_3), 1.11(singlet-like, CH_2), 1.90(3H, s, $\underline{CH_3-C-}$), 2.90 (2H, d, $J=5$, $\equiv C-\underline{CH_2}-CH_2=$), 4.65(2H, d, $J=6$, $=C-\underline{CH_2}O-C$), 5.33~6.17(m, olefinic).

MS (m/e); 258(M⁺).

비누화—I 20mg을 5% KOH methanol溶液 1ml를 加해 室溫에서 15分間 放置하고 증류수로 稀釋하여 ether 5ml씩으로 3회 抽出하고 ether層을 中性反應이 나타날때까지 물로 씻고 Na_2SO_4 로 脫水하고 비누화물 約 15mg을 얻었다. UV $\lambda_{max}^{Et_2O}$ nm; 283.5, 267.0, 253.0, 240.5. IR $\nu_{max}^{CCl_4}$ cm⁻¹; 3640(OH), 2250(C≡C).

Alcohol의 酸化—Alcohol 約 10mg을 CCl_4 10ml에 녹히고 活性 MnO_2 ⁵⁾ 40mg을 加해

室溫에서 15分間 흔들어 섞은후 Na_2SO_4 가 充塡된 小型 column을 通過시키고 N_2 氣流下에서 蒸發濃縮하여 酸化物 約 7mg을 얻었다. Aldehyde의 TLC(petro. ether : ether=85 : 15, 紫外線—螢光法 또는 2,4-dinitrophenylhydrazine試液)를 施行하여 R_f 0.49의 部分을 取하여 上記 同一條件에서 preparative thinlayer chromatography로 精製하였다. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{Et}_2\text{O}}$ nm ; 314, 294, 279, 229, 219, 211, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4}$ cm^{-1} ; 2240(C≡C), 1685(C=O).

Aldehyde의 還元—Aldehyde 約 10mg을 dioxane—물(9 : 1) 混液 13ml와 NaBH_4 45mg을 加하고 이 混合物를 37~39°에서 30分間 잘 흔들어 섞고 冷却한 다음에 증류수로 稀釋하고 ether 20ml씩을 4回 抽出하였다. 全抽出液을 증류수 30ml씩으로 3回 씻고 Na_2SO_4 로 脫水한 다음에 N_2 氣流下에 濃縮하여 얻은 殘查의 TLC(petro. ether : ether=70 : 30, 紫外線—螢光法, R_f 0.19)는 **I**을 비누화하여 얻은 物質로 復歸하였다.

本研究을 遂行하는데 있어서 始終一貫 指導하여 주신 禹麟根博士, 朴大成博士, 韓秉勳博士, 文昌奎博士께 深謝하는 바입니다.

文 獻

1. S. Shibata, I. Kitagawa and H. Fujimoto, *Tetrahedron Lett.*, **1965**, 3783.
2. S. Shibata, I. Kitagawa and H. Fujimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **14**, 1023(1966).
3. K. Takagi, S. Okabe and R. Saziki, *Jap. J. Pharmacol.*, **19**, 418(1969).
4. K. Takagi and S. Okabe, *Jap. J. Pharmacol.*, **18**, 9(1968).
5. F. Bohlman, C. Zdero and W. Thefeld, *Chem. Ber.*, **104**, 203(1971).
6. J. Reisch, W. Spitzner and K.E. Schulte, *Arzneim. Forsch.*, **17**, 816(1967).
7. A. Girard and G. Sandlesco, *Helv. Chem. Acta*, **19**, 1095(1936).
8. K.E. Schulte, *Int. Symp. Chromato. Electrophore.*, Lect. Pap. 6th. Ed., **1970**(Pub. 1971), p-39.
9. Ian Hell, E.R.H. Jones and M.C. Whiting, *Chem. Ber.*, **91**, 1313(1958).
10. K.E. Schulte and G. Rücker, *J. Chrom.*, **49**, 317(1970).
11. R.K. Crowden, J.B. Harborne and V.H. Hey Wood, *Phytochem.*, **8**, 1963(1969).
12. I. Yosika, T. Kimura, H. Imagawa and K. Takara, *Yakugaku Zasshi*, **86**, 1216(1966).