

當歸의 Coumarin 成分研究

Decursin의 구조이성체 Decursinol Angelate의 分離 및 定量

柳庚秀* · 洪南斗 · 金南宰 · 孔泳濶**

慶熙大學校 藥學大學*, 東西醫學研究所, 韓國新藥(株)**

Studies on the Coumarin Constituents of the Root of *Angelica gigas* Nakai

Isolation of decursinol angelate and assay of decursinol angelate and decursin

Kyung Soo Ryu*, Nam Doo Hong, Nam Jae Kim and Young Yun Kong**

College of Pharmacy* and East-West Medical Center, Kyung-Hee University
Seoul 130-701 and Han-Kook Sin-Yak Co., Ltd.**, Taejeon 302-243, Korea

Abstract—From the root of *Angelica gigas* Nakai, decursinol angelate was isolated, which is structural isomer of decursin. Raw material contained average 2.44% of decursinol angelate and 3.30% of decursin by the GC analysis.

Keywords—*Angelica gigas* Nakai · decursinol angelate · GC analysis

當歸(the root of *Angelica gigas* Nakai)는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 참당귀의 뿌리를 건조한 것으로 함유성분으로는 柳¹⁾, 池²⁾ 등이 decursin, decursinol, imperatorin 등을 분리 보고한 이래 decursin이 당귀의 주성분이라는 것은 이미 잘 알려져 있다. 그러나, decursin의 함량은 정량방법에 따라서 현저한 차이가 있음이 밝혀졌다. 高³⁾은 1.5% OV-1 column을 사용한 GC 정량법에서 당귀중 decursin 함량은 약 2.60%로 보고하였으나 黃⁴⁾은 μ Bondapak C₁₈ column을 사용하여 HPLC로 정량하였을 때 5.9%의 매우 높은 함량을 나타냄을 보고한 바 있다.

따라서, 저자들은 분석방법에 따라 함량의 차이가 있음에 착안하여 당귀중의 coumarin계열 성분분리를 추구한 바 decursin의 구조이성체인 decursinol angelate (3'-angeloyloxy-3', 4'-dihydroxanthyletin)을 분리하였으며 함량의 차이는 이 화합물에 의해서 기인함을 알 수 있었다. 또한, decursinol angelate는 당귀중에서 아직 분

리보고된 바 없어 처음으로 분리동정하여 보고한다. 그리고, decursinol angelate와 decursin은 μ Bondapak C₁₈ column을 사용하여 HPLC로 분석하면 동일한 retention time에서 검출되어 동시에 정량되기 때문에 이들 화합물의 분리정량을 시도하여 gas chromatography법에 의한 당귀중의 decursinol angelate와 decursin함량을 정량하여 보고하고자 한다

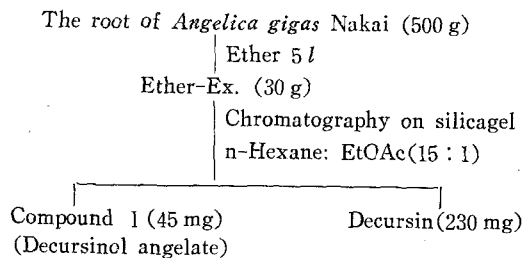
실험 방법

실험 재료

1988년 10월중 강원도 진부면 오대산 기슭에서 채집한 참당귀의 뿌리를 음건하여 사용하였으며 시중품은 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

기 기

용점은 Fisher-Johns melting point apparatus (uncorrected), UV Spectrum은 Shimadzu UV-260, ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 Brucker AM 300



Scheme I. Isolation of decursinol angelate and decursin from the root of *Angelica gigas* Nakai

NMR Spectrometer(300MHz, 75.5MHz), Mass Spectrum은 Hewlett-Packard Model HP 5985B GC/MS system(70eV), HPLC는 Waters Associates Model 440, GC는 Shimadzu GC-9A를 각각 사용하여 측정하였다.

추출 및 분리

음건한 참당귀 뿌리 약 500 g을 Scheme I과 같이 ether로 추출한 ether. Ex.를 n-hexane : EtOAc (15 : 1)로 수회 반복 column하여 나온 fraction을 μ Porasil column을 사용한 HPLC로 분석하여 단일물질인 fraction을 합쳐 각각 compound I 과 decursin을 45 mg, 230 mg을 얻었다.

Compound I—EtOH로 재결정하여 백색 침상 결정을 얻었다.

MP : 94~95° (uncorrected); UV λ_{max}^{MeOH} nm: 328, 220, 205; MS(EI, 70eV) m/z (rel. int.) : 328 (M⁺, 0.7), 228(21.4), 213(100.0), 83(24.7), 55(20.1); ¹H-NMR(300MHz, CDCl₃) 및 ¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃) : See Table I, Table II.

Decursinol angelate 및 decursin의 정량

1) 정량조건의 검토

정량조건은 Table III과 같으며 A법은 黃⁴⁾ 등의 방법이고, C법은 高³⁾ 등의 방법을 변형한 것이며 B법은 μ Porasil column을 사용하여 HPLC를 이용한 정량방법으로 세로이 개발한 방법이다. 동량의 decursinol angelate 및 decursin을 취하여 각각 또는 1 : 1로 혼합하여 각 조건을 비교 관찰하였다. 표준품으로는 decursinol angelate 와 decursin을 사용하였다.

2) 분석시료의 조제

채집 및 시중에서 구입한 당귀 각각 3g씩 정

Table I. ¹H-NMR spectral data of compound I and decursin

Proton	Compound I	Decursin
3	6.24, d(9.5)	6.23, d(9.5)
4	7.59, d(9.5)	7.59, d(9.5)
5	6.80, s	6.80, s
8	7.16, s	7.16, s
3'	5.13, t(4.8)	5.09, t(4.8)
4'	2.90, dd(17.6, 4.8)	2.87, dd(17.6, 4.8)
	3.23, dd(17.6, 4.8)	3.20, dd(17.6, 4.8)
gem(CH ₃) ₂	1.38, s	1.36, s
	1.40, s	1.39, s
2''	—	5.67, m
3''	6.11, qq(7.2, 1.4)	—
2''-CH ₃	1.84, d(1.4)	—
3''-CH ₃	—	2.15, d(1.2)
4''	1.89, d(7.2)	1.88, d(1.2)

* Signals are designated as follows; s: singlet, d: doublet, t: triplet, qq: double quartet, m: multiplet. Figures in parentheses are coupling constant in Hz.

Table II. ¹³C-NMR spectral data of compound I and decursin (in CDCl₃)

Carbon	Compound I	Decursin
2	161.3	161.3
3	113.3	113.2
4	143.1	143.2
5	128.6	128.7
6	115.4	115.9
7	156.4	156.4
8	104.6	104.6
9	154.2	154.1
10	112.8	112.8
2'	27.9	27.6
3'	77.1	76.6
4'	70.0	69.0
gem(CH ₃) ₂	23.2	23.2
	25.1	25.0
1''	167.1	165.7
2''	127.3	115.5
3''	139.5	158.5
4''	15.8	27.5
2''-CH ₃	20.5	
3''-CH ₃		20.3

Table III. Analytical condition of decursinol angelate(I) and decursin(II)

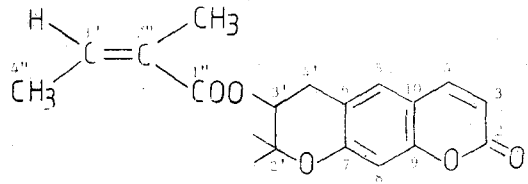
	A	B	C
Instrument	HPLC	HPLC	GC
Column	μ Bondapak C ₁₈	μ Porasil	1.5% OV-1
Moble phase	MeOH : H ₂ O(7 : 3)	n-Hexane : CHCl ₃ : EtOAc(20 : 2 : 1)	N ₂
Detection	340 nm	340 nm	FID
Flow rate (ml/min)	1	2	40
Temperature(°C)			
Injector			270
Detector			270
Column	40	40	250
Retention time(min)			
I	13.8	26.0	10.0
II	13.8	28.5	11.9

밀히 취하여 ether 100 ml로 2시간 동안 환류추출하였다. 여과한 후 잔사물 1회 반복추출을 행하여 여액을 합쳐 감압농축하고 잔류물에 MeOH를 가해 용해시켜 전량을 50 ml로 하여 분석용 시료로 하였다. 정량방법은 Table III의 A법 및 C법에 따라서 decursinol angelate와 decursinol의 함량을 측정하였다.

실험결과 및 고찰

Compound I은 TLC 상에서 일반적인 용매를 이용하면 분리되지 않고 decursin과 거의 동일한 위치에서 관찰되어 확인이 곤란하기 때문에 μ Porasil column을 이용한 HPLC 또는 1.5% OV-1 column을 이용한 GC를 사용하여 단일 peak를 나타내는 fraction 만을 농축하고 EtOH로 재결정하여 백색 침상결정을 얻었다.

Compound I은 청색 형광을 나타내고 UV spectrum은 220 및 328 nm에서 강한 흡수가 있으며 mass spectrum에서 분자량은 328로서 decursin과 동일하며 fragmentation pattern도 매우 유사함을 나타내었다. ¹H-NMR spectrum에서 coumarin핵의 H-3 및 H-4에 해당하는 doublet가 6.24 및 7.59 ppm에서 나타나며 H-3'

**Scheme II.** Structure of Decursinol angelate

및 H-4'에 해당하는 triplet와 double doublet가 5.13 및 2.90, 3.23 ppm에서 관찰되어 pyranocoumarin의 decursin과 매우 비슷하였다. 또한, H-3''에 해당하는 proton이 6.11 ppm에서 double quartet($J=7.2, 1.4$ Hz)가 관찰되고 2''-CH₃의 proton이 1.84 ppm에서 double($J=1.4$ Hz)가, H-4''에 해당하는 doublet가 1.89 ppm($J=7.2$ Hz)에서 나타나 Compound I은 pyranocoumarin핵의 측쇄에 angeloyl기가 결합되어진 것으로 생각되어졌다. ¹³C-NMR spectrum에서도 angeloyl carbon의 chemical shift가 20.5 ppm에서 2''-CH₃, 15.8 ppm에서 C-4'', 127.3 ppm에서 C-3''이 각각 관찰되어 측쇄에 결합된 산(acid)은 angeloyl인 것으로 추정할 수 있었다. Compound I을 alkali로 가수분해하면 decursinol이 생성되고 산으로서는 angelic acid가 생성되어 decursinol 3'-OH에 결합된 radical은 decursin의 senecio기가 아니고 senecioylic acid의 구조이 성체인 angeloylic acid가 결합된 것으로 추정되었고 이 화합물의 物理的 性狀 및 기기분석치가 decursinol angelate^{5,6)}와 일치되는 것으로 보아 decursin의 구조이성체인 decursinol angelate로 확정하였다. Decursinol angelate는 Ayshev⁵⁾ 등이 *Seseli grandivittatum*에서 분리 보고 한 바 있고 당귀중에서는 처음으로 분리된 물질이었다.

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 A법에서는 decursinol angelate와 decursin이 동일한 retention time에서 검출되며 또한 이들 두화합물을 1 : 1로 혼합하였을 때에도 서로 분리되지 않고 13.8분에서 그 함량만 2배 증가되어 검출됨을 알 수 있었다. 반면에 B법 및 C법에서는 decursinol angelate와 decursin이 각각 26.0분, 28.5분과 10.0분, 11.9분의 retention time에서 검출되며 1 : 1 혼합액에서도 각각 분리되어 나타났다.

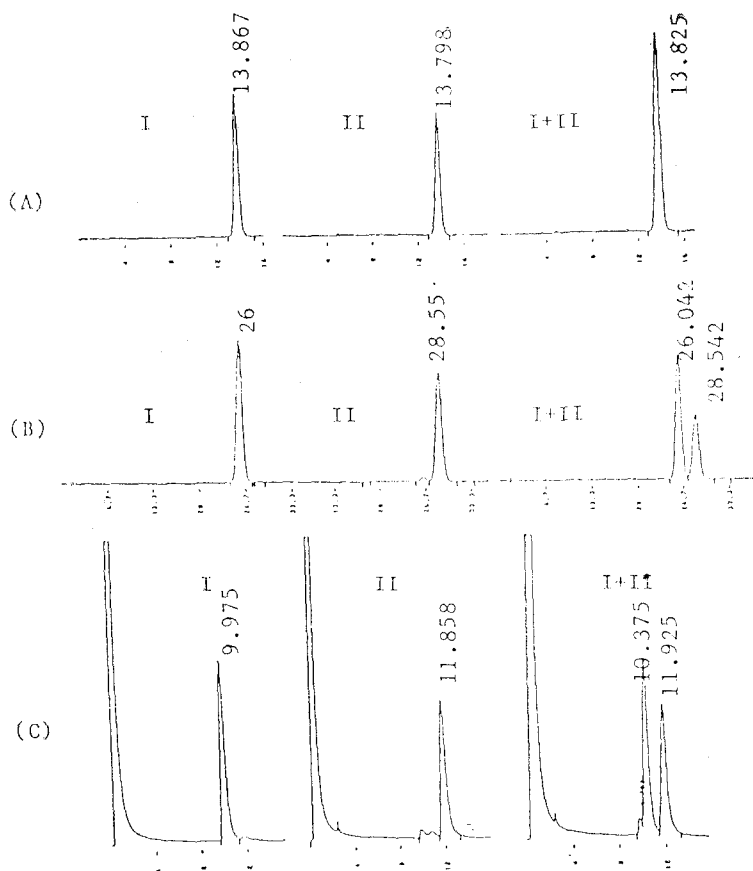


Fig. 1. HPLC and GC profiles of decursinol angelate(I) and decursin(II) applied with Table III's conditions

따라서, μ Bondapak C₁₈ column을 이용한 A법은 당귀중의 decursinol angelate와 decursin의 분리정량을 하는 데에는 부적합한 것으로 생각되어 gas chromatography를 이용한 C법을 사용하여 분리정량을 시도하였으며 그 함량차이를 비교하기 위하여 A법과 병행 실시하였다. 우선, 검량선을 작성하고자 decursinol angelate 및 decursin 각각 20 mg을 MeOH 10 ml에 용해하고 이액을 2배수씩 희석하여 A법 및 C법에 따라 측정하였을 때 회귀방정식은 직선성을 나타내었다. 이 방정식을 이용하여 시료중의 decursinol angelate 및 decursin을 정량한 결과를 Table IV에 나타내었다. 채집한 당귀에서는 decursinol angelate가 2.36%, decursin이 3.14% 함유하였고 시중 당귀에서도 각각 2.44%와 3.30%를 나

Table IV. Contents of decursinol angelate(I) and decursin(II)

Sample collection		GC ^{a)}	HPLC ^{b)}
		1.5%OV-1	μ Bondapak C ₁₈
O-Dae Mt.	I	2.36	
	II	3.14	5.68
Kyung-Dong	I	2.44±0.958(13)	
	II	3.30±0.799(13)	5.51±1.560(13)

Figures in parentheses are the number of sample.

a) C condition of Table III

b) A condition of Table III

타내었다. 한편, decursin을 표준품으로 하여 μ Bondapak C₁₈ column을 이용한 HPLC정량법 즉 A법에서는 5.68%와 5.51%로 매우 높은 함량을 나타내었으며 이는 decursinol angelate와 decursin의 함량을 합한 것과 유사하고, 黃⁴⁾등

의 보고와도 일치하므로 이들 화합물이 함께 정량되어지는 것임이 확인되었다. 따라서, 당귀중의 decursin을 정량하고자 할 때에는 황⁴⁾ 등의 방법인 μ Bondapak C₁₈ column을 사용하여 HPLC로 정량하면 decursinol angelate와 함께 정량되어지므로 적합하지 못하며 μ Porasil column을 이용하여 HPLC로 정량하든가 또는 고³⁾ 등의 방법인 1.5% OV-1 column을 이용하여 GC로 정량하는 것이 바람직하다고 사료된다.

결 론

당귀 중에서 coumarin계 성분이며 decursin의 구조이성체인 decursinol angelate (3'-angeloyloxy-3',4'-dihydroxanthyletin)를 처음으로 분리하였다. 또한 당귀중의 decursinol angelate와 decursin의 분리정량은 1.5% OV-1 column을

이용한 GC법 또는 μ Porasil column을 사용한 HPLC법을 이용하면 양호하게 분리정량 할 수 있었고 GC법에 의해서 정량한 바 각각 2.36%와 3.14%이었다.

〈1990년 1월 4일 접수 : 2월 28일 수리〉

文 獻

1. 柳庚秀, 陸昌洙 : 藥學會誌, 11, 22(1967).
2. 池亨浚 : 藥學會誌 11, 36 (1967).
3. 高旺鎭, 高仁錫 : 경희약대논문집 7, 15 (1979).
4. 黃永植, 元道喜, 尹泰輔, 趙貞姬, 盧希元 : 국립보건원보 21, 341 (1984).
5. Abyshev, A.Z.; Denisenko, P.P.; Abyshev, D.Z.; Kerimov, Yu.B.: *Khim. Prir. Soedin.* 5, 640 (1977).
6. 成百宇, 禹源植, 陸昌洙 : 生藥學會誌 19 (4), 233 (1988)