

가시오가피(*Acanthopanax senticosus*)의 석유에테르 추출물 중 polyacetylene계 물질의 동정

양효진¹ · 김은미² · 장규섭^{1*}

Identification of the Polyacetylenes extracted from *Acanthopanax Senticosus* by Petroleum Ether

Hyo-jin Yang¹ · Eun-Mi Kim² · Kyu-Seob Chang^{1*}

ABSTRACT

This study was conducted to isolate polyacetylenes from the *Acanthopanax senticosus* and to identify the chemical structure of the polyacetylenes by UV, IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR. One of the liposoluble materials was extracted with petroleum ether. Polyacetylene compounds were collected through solvent fractionation at silica gel column chromatograph. The HPLC was used for the semi-preparative separation IR spectra of fraction 5 showed triple bonds at 2256 cm⁻¹ and double bond at 1654 cm⁻¹, respectively, ¹H-NMR spectra of Fraction 5 showed the double bond at 5.35-5.48 ppm. Triple bond at 64.0, 71.2, 74.2, 80.2 ppm and double bond at 121.89, 133.0 ppm were observed in the ¹³C-NMR spectra.

Key words : *Acanthopanax senticosus*, Polyacetylenes, Isolation

¹ 충남대학교 농업생명과학대학 식품공학과(Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

² (주) 웨미리 F & B(Family F & B Co. Ltd., Cheonbuk, Korea)

* 교신저자 : 장규섭(E-mail: changks@cnu.ac.kr, Tel: 042-821-6727)

I. 서 언

가시오가피의 학명은 “*Eleutherococcus senticosus Maxim*” 또는 “*Acanthopanax senticosus Harms*” 라고 한다. 중국에서는 “자오가(刺五加)” 영어로는 “Siberian ginseng”라 불리고 있으며 한국에서는 가시오가피 또는 가시오갈피로 불린다. 식물 분류학상 두릅나무 과에 속하는 가시오가피의 잎은 손바닥 모양의 겹잎이고 여름철에 꽃이 피어 9월에 검은색의 열매를 맺는다(Kim, 2005).

신농본초경(神農本草經), 본초강목(本草綱目), 동의보감(東醫寶鑑)에서는 강장(強壯), 강정(強精), 중풍(中風), 신경통(神經痛), 당뇨(糖尿) 등에 이용된다고 하였으며, 최근에는 스포츠 선수들과 우주비행사, 정신노동자의 피로회복에 사용되고 있다(Tang, 1992; Kim, 1996; Bae, 2000; Jung, 1998).

가시오가피에 관한 본격적인 연구는 1969년 소련의 Brekhman박사 등(Brekhman, 1969)에 의해 eleutheroside류가 adaptogen으로서 효능이 있는 것으로 보고되었으며(Ovodov, 1966) 근피 추출물에서 eleutheroside A~G를 분리 하였고, 가시오가피 뿌리껍질에서 eleutheroside A~E, 잎에서 eleutheroside I, K, L, M, lignan, coumarin, diterpene, triterpnoid 페놀 화합물 등이 보고됨에 따라 인삼과 함께 중요한 생약제로 연구되고 있다. 이러한 물질들은 대부분 열수 추출을 통한 극성물질이며, 최근 가시오가피와 같은 두릅나무과의 식물인 인삼의 경우 petroleum ether 을 이용한 지용성 물질인 polyacetylene 화합물의 약리 효능에 관해서 김(Kim, 1992)과 손 등(Sohn, 1992)에 의해 보고가 있다.

Polyacetylene 화합물은 두 개 이상의 삼중결합을 가지고 있는 다가불포화 알콜의 일종으로,

polyacetylene 화합물의 구조적 특성은 hept-1-ene-4,6-diyne-3-ol의 기본 골격을 갖는 C₁₇의 화합물로서 현재까지 인삼 및 홍삼으로부터 20종이 분리 동정되었다. 이들 polyacetylene 성분 중에서 panaxydol, panaxynol, panaxtriol 3 종이 대표적인 성분이며, petroleum ether 추출물 중 정제한 일부 분획이 항암작용이 있음을 보고 한바 있다 (Park, 2001; Nho, 1989).

따라서 본 연구는 대부분 열수 추출을 통한 극성물질의 추출과 생리활성 연구에만 치중되고 있는 두릅나무과인 가시오가피로부터 polyacetylene 계 화합물을 petroleum ether로 추출을 하여 HPLC, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR을 사용하여 구조 분석을 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 및 시약

본 실험에 사용한 가시오가피는 2004년 금산약재시장에서 자연건조 된 것을 구입하여 hammer mill로 분쇄한 것을 사용하였으며, polyacetylene 성분의 추출 용매인 ether와 petroleum ether는 HPLC grade를 사용하였다. silica gel chromatography용 재료는 silica gel 60(Merck, 230-400mesh, Germany)을 사용하였고, thin layer chromatograph(TLC)는 silica gel 60F₂₅₄ plate (Merck, glass sheet, 20×20cm, Germany)를 사용하였으며, polyacetylene 표준물질은 KT&G 중앙연구소로부터 제공받은 것을 사용하였다.

2. 가시오가피의 석유에테르추출물의 제조 및 TLC를 이용한 분리

건조한 가시오가피 500 g을 잘게 분쇄하여 2

L 플라스크에 넣고 petroleum ether를 가한 다음 실온에서 3일간 2회 추출하였다. 이 추출액의 고형부분과 액체부분을 filter paper(Whatman, 150 mm \times 100 Circles, England)로 여과하였고, 액체부분을 감압 농축하여 건조 시킨 후 농축액을 silica gel chromatograph open column(3 \times 40cm, 350mL)에 loading하고 hexane과 ether의 비율을 Fig. 1에서와 같이 바꾸면서 6개의 분획물을 얻었다. 각각의 분획물을 표준품과 TLC에서 전개하였으며, 전개용매는 petroleum ether : ether (7:3, v/v)으로 하였다. 분획물을 전개시킨 후 10% H₂SO₄로 발색시켰으며, 표준품과 동일한 spot을 띄는 분획물을 HPLC에 loading 하였다.

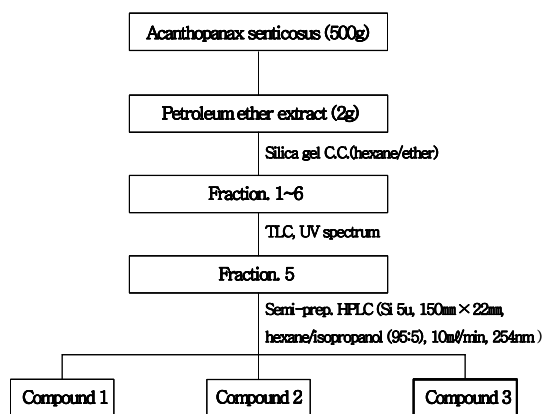


Fig. 1. Extraction and fractionation of crude polyacetylenes

3. 분획물의 정성분석

Polyacetylene계 물질의 분석조건은 김 등(Kim, 1998)의 방법을 기초하여 수행하였으며, 분석에 사용한 HPLC는 영인기기(Acme 9000 HPLC, Korea)를 사용하였다. HPLC 분석조건은 Table 1과 같다. HPLC로부터 정제된 물질의 성분을 분석 비교하기 위하여 UV-VIS spectrum(Mecasys, 2120UV, Korea)에서 파장을 비교하였으며, CCl₄에 물질을 안정화시켜 IR을 실시하였다. 수소간의 상관관계 규명하기 위하여 NMR시료는 CDCl₃에 녹여 ¹H-NMR(Nuclear magnetic resonance)을 측정하였고, 탄소의 위치를 확인하기 위하여 ¹³C-NMR을 측정하여 비교 분석하였다. chemical shift는 internal reference 0.03% TMS (tetramethylsilane)를 사용하여 ppm으로 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

1. TLC에 의한 polyacetylenes 확인

Petroleum ether와 ether 7:3의 전개용매를 사용하여 전개시켰으며, 각 분획물과 polyacetylene 표준품을 전개시킨 결과 fraction 5에서 polyacetylene 표준품과 동일한 band가 확인되었

Table 1. HPLC conditions for the analysis of polyacetylenes

Item	Conditions
System	Acme 9000 HPLC
Column	Allteck-Apollo Si 5u (150 mm \times 22 mm)
Detector	UV 254 nm
Mobile phase	hexane/isopropanol (95:5)
Flow rate	10 ml/min
Injection volume	10 μ l

고, 10% H₂SO₄로 발색시킨 결과, polyacetylene 표준품과 동일한 황색반점을 보였다. Rf값은 0.62로 polyacetylene 표준품과 fraction 5에서 동일한 Rf값을 관찰 할 수 있었다(Fig. 2).

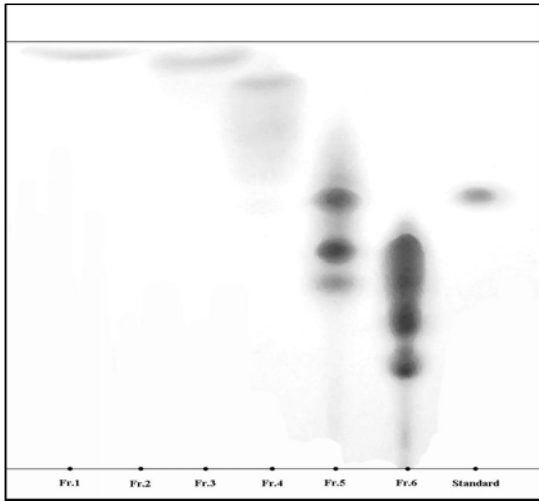


Fig. 2. Thin layer chromatogram of each fraction and faltarinol standard

2. HPLC와 UV에 의한 polyacetylenes 확인

TLC 전개 후 표준물질과 Rf값이 동일한 fraction 5를 hexane/isopropanol(95:5)용액으로 HPLC를 시행한 결과, fraction 5의 retention time은 4.40, 5.43, 6.40분이었다. 세 개의 peak를 각각 UV spectrum을 scanning한 결과, 6.40분의 분획물이 박(Park, 2001)과 손(Shon, 1992)이 보고한 polyacetylene 흡수 pattern인 230.0nm, 240.0nm, 254nm와는 완전히 일치하지 않았으나 231.0nm, 239.0nm, 257nm의 유사한 파장대를 보여 polyacetylenes이 존재하는 것으로 사료된다(Fig. 3, Fig. 4).

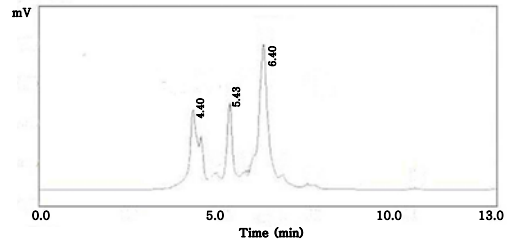


Fig. 3. HPLC/UV chromatogram of compound 3 in fraction 5

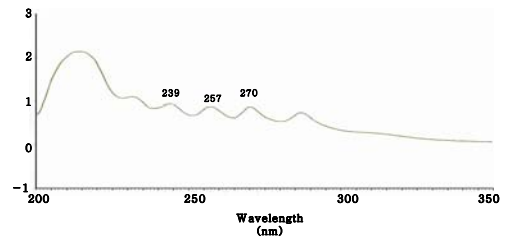


Fig. 4. UV spectrum of compound 3 in fraction 5

3. IR에 의한 polyacetylenes 확인

Compound 3은 황색오일 상으로 얻어졌으며, polyacetylenes의 전형적인 triple bond 2256cm^{-1} 과 1654cm^{-1} double bond가 관찰 되었다. $983, 929\text{cm}^{-1}$ 에서 terminal vinyl group의 이중결합을 관찰 할 수 있었고, $3,433\text{cm}^{-1}$ 는 hydroxy group의 peak를 나타내었다. $2,924\text{cm}^{-1}$ 와 $2,854\text{cm}^{-1}$ 의 peak는 지방족탄화수소의 methylene group에 의한 것이었으며, $1,118\text{cm}^{-1}$ 는 박(Park, 2001)이 보고한 secondary alcohol의 C-O stretching가 관찰되어 polyacetylene계 화합물로 볼 수 있다(Fig. 5).

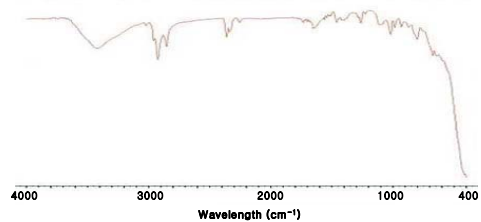


Fig. 5. IR spectra of compound 3 in fraction 5

4. ¹H에 의한 polyacetylenes 확인

¹H-NMR(CCl₄)에서 compound 3은 5.35-5.48 ppm에서 internal double bond와 4.91ppm에서 terminal vinyl group의 allylic protons를 관찰 할 수 있었다. 3.02-3.04ppm에서 triple bond와 internal double bond사이의 2개의 cis-form의 proton을 관찰할 수 있었으며, 2.01-2.03ppm에 hydrocarbon이 internal double bond 2개의 allylic protons에 연결되어 있었으며, 박(Park, 2001)에 의해 보고된 0.88ppm에서 aliphatic hydrocarbon의 methy기와 5.52, 5.25, 5.94ppm peak를 나타낸 점으로 보아 이 화합물이 말단에 vinyl group을 가지고 있는 polyacetylenic alcohol임을 알 수 있었다(Fig. 6).

5. ¹³C에 의한 polyacetylenes 확인

Compound 3의 ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃)에서 4개의 4급 탄소인 64.0, 71.2, 74.2, 80.2 ppm은 2개의 triple bond에 의한 peak였다. 22.63, 31.57, 29.13, 29.16, 29.21, 26.36ppm에서 전형적인 aliphatic methylene carbons을 관찰할 수 있었으며, 14.09 ppm에서 straight aliphatic chain의 terminal

methylene carbons이 관찰되었다. 116.98, 136.15 ppm은 terminal vinyl group에 의한 2개의 carbon이었으며, 63.49 ppm은 terminal vinyl group의 allylic position이었다. 17.65ppm에서 triple bond

Table 2. ¹³C-NMR shifts of compound 3 in fraction 5

Carbon Number	Chemical shifts(ppm)	
1	116.98	CH ₂
2	136.15	CH
3	63.49	CH
4	74.22	C
5	71.26	C
6	64.00	C
7	80.22	C
8	17.65	CH ₂
9	121.89	CH
10	133.06	CH
11	26.36	CH ₂
12	29.21	CH ₂
13	29.16	CH ₂
14	29.13	CH ₂
15	31.57	CH ₂
16	22.63	CH ₂
17	14.09	CH ₃

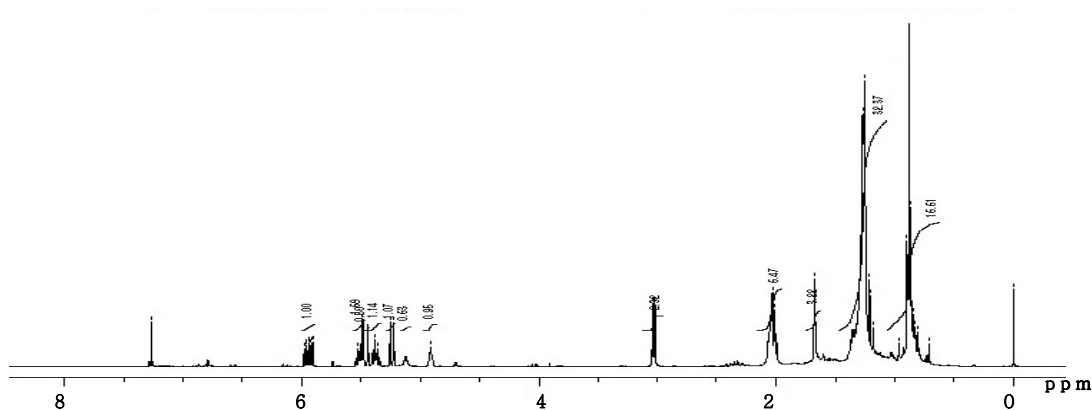


Fig. 6. ¹H-NMR spectra of compound 3 in fraction 5

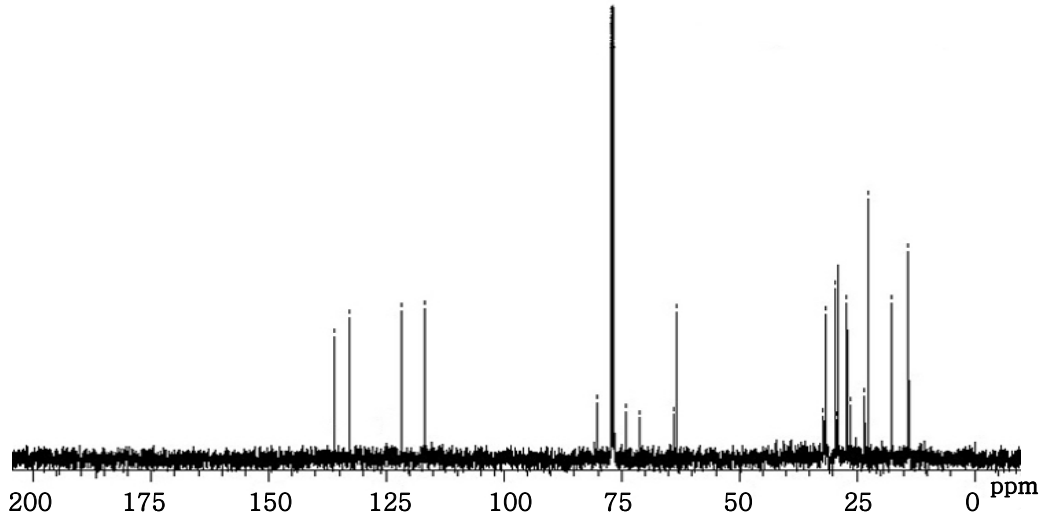


Fig. 7. ^{13}C -NMR spectra of compound 3 in fraction 5

에 의한 methylene carbon이었으며, 121.89, 133.0 ppm에서 internal double bond로 결합된 2개의 carbon를 관찰 할 수 있었다(Table 2, Fig. 7).

전형적인 64.0, 71.2, 74.2, 80.2ppm은 2개의 triple bond에 의한 peak와 121.89, 133.0ppm에서 internal double bond로 결합된 2개의 peak를 확인 할 수 있었다.

IV. 적 요

가시오가피를 실온에서 petroleum ether로 추출한 polyacetylene의 동정하기 위하여 TLC, HPLC, UV spectrum, IR, NMR로 수행하였다. TLC에 전개시킨 결과, polyacetylene 표준품과 동일한 band가 fraction 5에서 확인되었으며, HPLC에서 fraction 5를 분리시킨 결과 retention time이 4.40, 5.36, 6.40분이었다. 이를 UV spectrum에서 확인한 결과, 6.40분의 peak (compound 3)에서 polyacetylenes의 파장인 231.0nm, 239.0nm, 257.0nm을 나타내었다. IR spectrum에서 triple bond 2256cm^{-1} 과 double bond 1654cm^{-1} 의 전형적인 peak를 나타내었으며, ^{13}C -NMR(400MHz, CDCl_3)에서 polyacetylenes

참고문헌

1. Kim, M.J., Kwon, Y.S., Yu, and C.Y. 2005. Antioxidative Compounds in Extracts of *Eleutherococcus senticosus* Max. *Platlets*, Korean J. Medicinal Crop Sci., 13(4): 194-198.
2. Tang, W., and G. Eisenbrand. 1992. Chinese drugs of plant origin. Springer-Verlag, Heidelberg. : 1-12.
3. 김태욱. 1996. 한국의 수목. p.504. 교학사.
4. 배기환. 2000. 한국의 약용식물. p.360. 교학사.
5. 정보섭, 신민교. 1998. 향약대사전. p.432. 영림사.
6. Brekhman II, I.D. Dardymov. 1969. New substances of plant origin which increase nonpecific resistance. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 9:419-430.
7. Ovodov, Y.S., G.M. Frolova, Nefedova, and Elyakov,

- G.B. 1966. The Glycoside of *Eleutherococcus senticosus* Max. I. Isolation and some Properties of *Eleutherococcus* B and E. *Khim. prirod. soedin.*, 1:3-7.
8. Kim, S.I. 1998. Studies on the Cytotoxic Components of the Korea Ginseng Roots. Ph. D. thesis. Chung-Nam National University, Daejeon, Korea.
9. Sohn, H.J. 1992. Safety and Antihepatotoxicity of Petroleum Ether Soluble Components from the Korean Ginseng Roots. Ph. D. thesis. Chung-Nam National University, Daejeon, Korea.
10. Park, C.E., Park, C.H. 2001. Studies on the Extraction Efficiency of Polyacetylene from Korean Ginseng. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 16(3): 264-268.
11. Nho, K.B., Sohn, H.J. 1989. Determination of the Concentration of Panaxynol, Panaxydol and Panaxytriol by Capillary-GC(FID). *Korean J. Ginseng Sci.*, 13(2): 183-188.
12. Kim, Y.H. 1986. Studies on the Chemical Components and Biological Activities of *Acanthopanax Koreanum*. Ph. D. thesis. Seoul National University, Seoul, Korea.
13. Park, C.E., Park, C.H. 2001. Studies on the Extraction Efficiency of Polyacetylene from Korean Ginseng. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 16(3):264-268.