玄蔘의 有效成分, *p*-Methoxycinnamic acid,에 關한 硏究 I

p-Methoxycinnamic acid의 同定 및 그 解熱作用

禹 源 植*

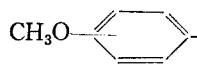
(Received September 30, 1963)

Won Sick Woo: Active Principle, *p*-Methoxycinnamic Acid, of Scrophulariae Radix I Identification of *p*-Methoxycinnamic Acid and its Antipyretic action.

Antipyretic substance is isolated from roots of Scrophularia Oldhami Oliver which is used as antipyretic and anti-inflammatory drug. This substance is identified as p-methoxycinnamic acid which rarely occurs in plants.

玄蔘, *Scrophularia Oldhami* Oliver의 根은 漢方에서 解熱, 消炎劑로 使用하고 있으나 그 有效成分에 關하여는 檢討되고 있지 않다. 著者는 漢方에서 使用하는 蒸乾玄蔘의 ethanol-extract가 typhoid vaccine으로 發熱시킨 家兎에 對하여 解熱作用(Fig. 1)이 있음을 確證하였으므로 解熱成分의 化學的 本體를 究明코저 하였다.

玄蔘의 ethanol-extract를 實驗記載와 같이 處理하여 $C_{10}H_{10}O_3$, *m.p.* 173°, *clarification point* 187°, LD_{50} 878 mg/kg(mouse)인 昇華性無色針狀結晶을 얻었다. 本物質은 Br_2 溶液과 $KMnO_4$ 溶液을 脫色시키며 $NaHCO_3$ 溶液에 CO_2를 發生하며 溶解하고 $AgNO_3$ ethanol 溶液을 本物質 ethanol 溶液에 注加하면 一鹽基酸의 銀鹽을 生成한다. 本物質을 CH_3I로 methyl化 하면 *m.p.* 88°의 monomethyl ester를 生成하고 NaOH로 鹼化하면 原物質을 얻게 되며 酢化를 試圖하였으나 原物質만이 回收되었고 Zeisel法에 依한 methoxyl基 測定結果는 1個의 methoxyl基가 存在함을 證明하였다. 以上과 같은 化學的 態度를 綜合하면 本物質은 methoxycinnamic acid [I]임을 推定케 하였다.



[I]

本物質을 alkali에서 $KMnO_4$로 酸化하면 *p*-methoxybenzoic acid를 얻게 되고, Perkin法[1]으로 合成한 *p*-methoxycinnamic acid와 混融하여 融點降下가 없었으므로 本物質은 *p*-methoxycinnamic acid임을 確認하였다.

한편 本硏究에서 使用한 玄蔘은 蒸乾處理한 市販 材料였으므로 分離된 *p*-methoxycinnamic acid가 蒸乾處理過程에서 原成分이 變化되어 二次的으로 생긴 成分이 않인가를 檢討할 目的으로 新鮮한 玄蔘을 檢體로 하고 paper partition chromatography로 檢索하여 *p*-methoxycinnamic acid를 檢出할 수 있었으므로 이 成分은 玄蔘의 原然한 成分임을 證明하였다. 이 物質은 typhoid vaccine으로 發熱시킨 家兎에 對하여 玄蔘 ethanol-extract보다 强한 解熱作用을 나타낸다.

p-methoxycinnamic acid는 이미 1887年 Perkin[2] 氏가 合成하였으나 天然에서는 그 ethylester가 *Kaempferia galanga* L.[2]와 *Hedycium spicatum* Hamilton[3]에서 發見되었고, 遊離狀態로는 *Pyrola incarnata* Fisch.[4]에서 發見되었을 뿐이다. 따라서 本硏究 結果는 玄蔘에 遊離 *p*-methoxycinnamic

* Drug Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea

acid가 存在한다는 一例를 追加하였으며 本物質이 玄蔘의 解熱成分임을 證明하였다.

本硏究를 指導하여 주신 禹麟根 敎授와 實驗을 協助하여 주신 申善鎬君 元素分析을 擔當하여 주신 林中基 敎授에게 感謝하는 바이다.

實 驗

***p*-Methoxycinnamic acid의 分離.**——玄蔘 17 kg을 95% ethanol로 4時間씩 3回 반복 溫浸하여 ethanol을 蒸發濃縮한 ethanol-extract를 ether로 반복 抽出하고 이 ether 溶液을 $NaHCO_3$ 溶液으로 진탕한 다음 水層을 HCl 酸性으로 할 때 생기는 白色沈澱物을 물에서 再結晶하여 *m.p.* 173°, *clarification point* 187°의 無色昇華性針狀物質 12 g을 얻었다.

Anl. Calcd. for $C_{10}H_{10}O_3$: C, 67.41; H, 5.66; CH_3O-, 17.42; $-COOH$, 25.27; *Mol. wt.*, 178.19 *Found:* C, 66.60; H, 5.73; CH_3O-, 17.18(Zeisel's method); $-COOH$, 25.00(Ag-salt method); *Mol. wt.*, 166—170(Rast's method).

Methyl p-methoxycinamate의 生成.—*p*-Methoxycinnamic acid 0.2 g와 Ag_2O 0.7 g을 ether 50 ml에 加하고 CH_3I 0.5 g을 注加한 後 水浴上에서 5時間 加熱하고 冷却, 濾過後 ether 層을 $NaHCO_3$ 水로 洗滌한 다음 ether 層을 分離하여 蒸發한 殘査를 methanol로 再結晶하면 *m.p.* 88° 無色柱狀結晶 0.15 g을 얻게 된다.

Anal. Calcd. for. $C_9H_9OCOOCH_3$: *Sapon. value.* 291.90 *Found:* 297.37

***p*-Methoxycinnamic acid의 $KMnO_4$ 酸化.**——*p*-Methoxycinnamic acid 0.17 g을 3% Na_2CO_3 15 ml에 溶解하고 水浴上에서 80°로 維持하면서 1% $KMnO_4$를 脫色되지 않을 때까지(約 50 ml) 加하

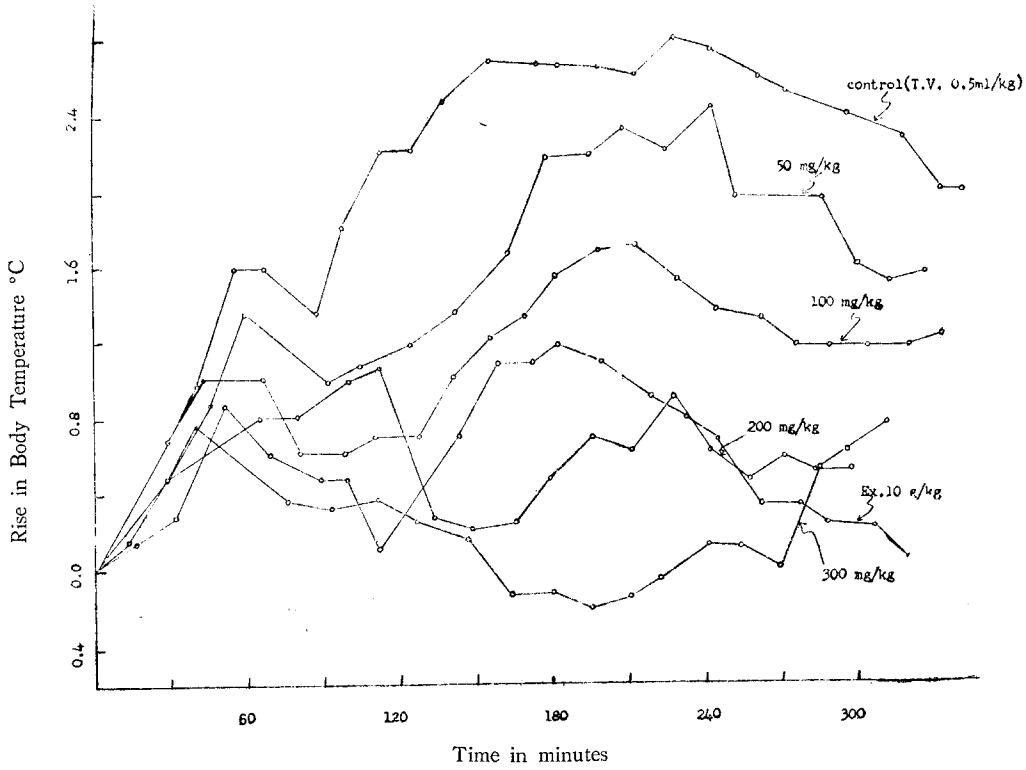


Fig. 1.—Effects of p-Methoxycinnamate and of Scroph. Radix Ethanol Ex. on the Body Temp. of Typhoid Vaccinated Rabbits.

고 過量의 $KMnO_4$를 H_2O_2로 分解시킨 後 生成된 MnO_2를 濾別한 後 이 反應液을 HCl 酸性으로 할 때 生成되는 沈澱을 濾集하여 물로 再結晶하면 *m.p.* 184°의 無色針狀結晶 0.03 g을 얻게 된다. 本物質은 anisaldehyde를 同一한 方法으로 酸化하여 얻은 *p*-methoxybenzoic acid와 混融하여도 融點이 降下하지 않는다.

Paper partition chromatography.—新鮮한 玄蔘根을 $NaHCO_3$ 溶液과 homogenate한 後 濾過하고 濾液을 HCl 酸性으로 한 다음 ether로 抽出하여 試料로 使用하였다. 濾紙 Whatman No. 1을 使用하여 3% ammonia水 飽和 butanol로 上昇 展開하고 fluorescence light 및 brom phenol blue로 發色시켰다.

Material	Sample	*p*-Methoxycinnamic acid	Sample+*p*-Methoxycinnamic acid
Rf. value	0.32	0.32	0.32

解熱作用.——同一한 條件下에서 10日間 飼育한 家兎(體重 1.5～2.0 kg)를 試驗前 1時間 間隔으로 3回 體溫을 測定하고 體溫이 39.1°±0.2의 範圍에 있는 動物만을 使用하여 各群(3匹一群)에 typhoid paratyphoid A & B triple vaccine(국립방역연구소 製品)을 0.5 ml/kg씩 靜注後 第一峰發熱時(約 1時間 後)에 10% sodium *p*-methoxycinnamate 溶液을 各用量別로 靜注(但 extract는 經口)하였을 때 Fig. 1과 같은 結果를 얻었다.

LD_{50} 測定.—— 一定한 飼料로 一週間 飼育한 15 g 內外의 mouse를 使用하여 10% sodium *p*-methoxycinnamate 溶液을 다음과 같은 用量別로 皮下注射하여 72時間 觀察하고 Litchfield-Wilcoxon 法[5]에 依하여 LD_{50}을 算出하였다.

Dose mg/kg	1100	1000	909	826	751	683
mice died/mice used	10/10	5/10	4/10	5/10	1/10	0/10

LD_{50}=878 mg/kg(信賴限界 791～975 mg/kg p=0.05)

REFERENCES

1. W. H. Perkin, *J. Chem. Soc.*, London, **31**, 389(1877).
2. van Romburgh, *Chem. Zentr.*, **1900**, Ⅱ, 970.
3. J. C. Thresh, *Pharm. J. Trans.*, **15**, 361(1884).
4. H. Inouye and Y. Kanays, *J. Pharm. Assoc.* (*Japan*), **78**, 301(1958).
5. J. T. Litchfield Jr. and F. Wilcoxon, *J. Pharmacol.* **96**, 99(1949).