

## 九折草 *Chrysanthemum sibiricum* FISCHER

### 의 성분 연구

李 容 柱

Yong Choo LEE: Studies on the Constituents  
of *Chrysanthemum sibiricum* FISCHER

#### abstract

A yellowish white microneedles,  $C_{23}H_{32}O_{14} \cdot 1\frac{1}{2} H_2O$ , m.p. 262-4°,  $[\alpha]_D^{20} = -71, 43^\circ (C=0.42, \text{pyridine})$ , its acetate m.p. 123-5°, were obtained in 0.3% yield from the leaves of *Chrysanthemum sibiricum* FISCHER.

This substance is insoluble in water and the usual organic solvents except pyridine and ethylene glycol and, is not decomposed by dilute mineral acids but undergoes decomposition on being boiled in 60%  $H_2SO_4$  or 35% HCl, giving one mole each of acacetin, glucose and rhamnose. It was not hydrolysed with a rhamnodiastase preparation obtained from the seeds of *Rhamnus koraiensis*.

After permethylation of it, the uncrystallized product was hydrolysed and apigenin-5,4'-dimethyl ether, m.p. 262° was obtained, indicating that the disaccharide residue is at the 7 position of acacetin. Partial hydrolysis of this acacetin-7--rhamnoglucoside in cyclohexanol with formic acid gave acacetin-7-glucoside, m.p. 246° and rutinose, identifying them with authentic specimen on a paper chromatography. It was thus identified as linarin(acacetin-7-rutinoside) by means of mixed fusion, of paper partition chromatography and of its derivatives.

Zemplén and Bognár suggested that the glucosidic linkage of linarin is  $\beta$  by means of synthesis of this substance. But there is no evidence whether it is hydrolysed by emulsin or maltase or not.

Linarin itself was not hydrolysed by an emulsin existing in the seed of Apricot or a maltase, but acacetin-7-glucoside(tilianin) which obtained from linarin gave acacetin and glucose on hydrolysis with the same emulsin and accordingly the glucosidic linkages of linarin and tilianin are thus regarded as  $\beta$ .

구절초(*Chrysanthemum sibiricum* FISCHER)<sup>1-2)</sup>는 Compositae 에 속하는 多年生 宿根草로서 韓國 全境, 滿洲 및 日本의 一部地域에 野生하며 漢方에서는 산구절초(*Chrysanthemum sibiricum* TURZANINOW & DC. var *acutibulum*(DC.) KOMAROW), 비위구절초(*Chrysanthemum sibiricum* TURZANINOW & DC. var *alpinum* NAKAI) 등을 總稱하여 九折草라 하고 婦人病治療에나 또는 健胃劑로 사용하고 있다. 本研究對象의 植物이 韓國을 爲始하여 日本, 滿洲等地에 널리 分布되어 있는 藥用植物임에도 不拘하고, 이 成分에 關한 研究를 보진데, 李·朴<sup>3)</sup>이 그 莖葉에서 m.p. 262~4°의 帶黃白色針狀結晶體(acetate는 m.p. 123~5°의 淡白色針晶)를 얻었다는 報告가 있을 뿐이므로, 著者는 이 物質의 本體를 究明코자 하였다.

本結晶體는  $[\alpha]_D^{20} = -71.43^\circ$  (C=0.42, pyridine)이며 그 分子式은  $C_{28}H_{32}O_{14} \cdot 1\frac{1}{2} H_2O$ 에 一致하고 10% KOH 또는 10% NaOH 水溶液에 黃色을 띄우며 녹아 靑綠色의 螢光을 나타낸다. 이 物質은 물에 거의 녹지 않고 溫時에도 Fehling 試液을 還元치 않으며 pyridine, ethylene glycol 等에는 잘 녹고 이들을 除外한 有機溶媒에는 약간 녹는다. 이 物質의 EtOH 溶液에  $FeCl_3$  水溶液을 넣으면 紫褐色을 나타내고, 또 HCl과 Mg 或은 HCl과 Zn을 作用시키면 처음에는 黃色이 나타났다가 漸次로 黃橙色으로 變하여진다. 이 物質의 acetate는  $C_{28}H_{25}O_{14} \cdot (CH_3CO)_7 \cdot H_2O$ 에 一致하며  $[\alpha]_D^{10} = -137^\circ$  (C=0.14, benzene)의 白色針晶이다. 著

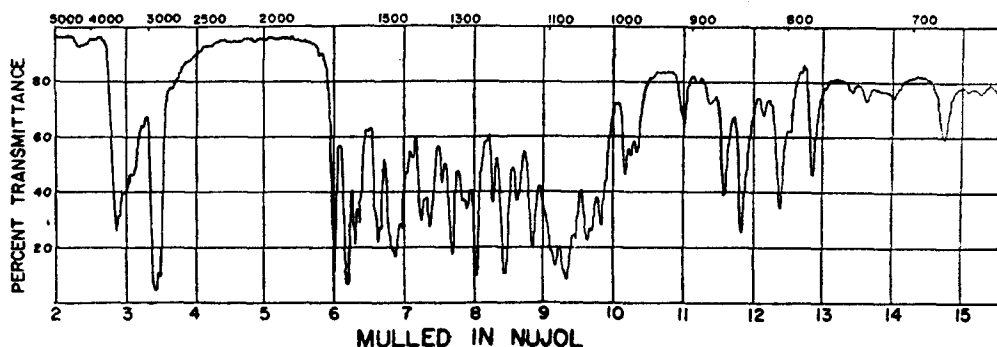


Fig. 1 Infrared spectrum of glycoside.

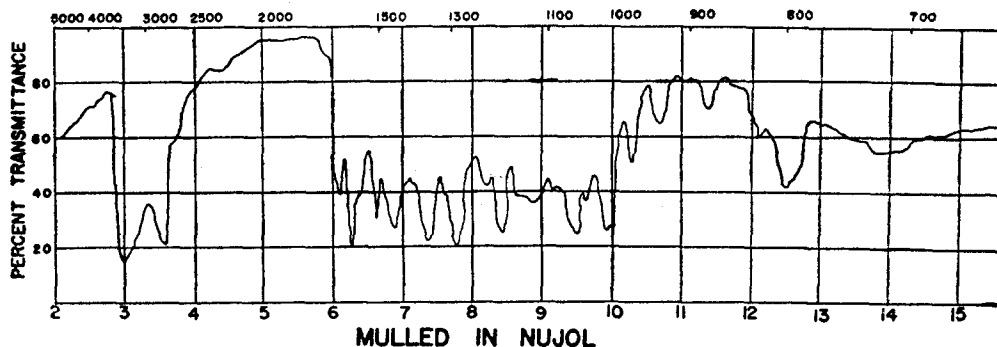


Fig. 2 Infrared spectrum of rutin(Sadtler Card No. 152--B)

者는 以上과 같은 性質을 綜合하여 볼 때 이 物質이 flavone 系의 化合物일 것이 豫測되었으  
며 또 그 IR-spectra의 pattern(Fig. 1, Fig. 2)도 flavone glycoside의 그것<sup>4)</sup>과 相似하였으  
므로 本物質의 加水分解產物을 追窮하였다.

이 物質은 60% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 또는 35% HCl 水溶液으로서 加水分解하였을 때에 黃色沈澱과 糖  
으로 分解되었다. 黃色沈澱인 aglycone은 m.p. 262°의 淡黃色絹狀針晶(acetate는 m.p. 201°  
의 無色針晶)이며 methoxyl 基의 反應이 陽性이고 標準品인 acacetin<sup>5-6)</sup> (m.p. 262°),  
acacetin acetate(m.p. 201°) 등과 混融하여 보아도 融點降下가 없으며, 元素分析值도 一致하  
고, paper partition chromatography(PPC)로 이 物質과 標準品인 acacetin을 同時에 展開시킬  
때도 同一한 R<sub>f</sub>值를 얻었다. 또한 이 物質은 30% KOH 水溶液으로 分解하였을 때 phenol  
殘基가 分離된 phloroglucinol<sup>7-9)</sup> (m.p. 213°)와 酸殘基가 分離된 anisic acid(m.p. 182°)를 生  
成하였다. 以上과 같은 實驗結果를 綜合하여 볼 때, 이 aglycon은 acacetin임을 確認할 수 있  
었다. 한편 加水分解物의 糖部分을 BaCO<sub>3</sub>로 中和하여 얻은 시료狀物質은 熱時에 Fehling  
試液을 還元하며, 標準品인 glucose, rhamnose와 同時에 PPC로 展開시킬 때 同一한 R<sub>f</sub>值  
를 얻었고, osazone 試驗에 있어서도 黃色針晶인 glucosazone(m.p. 203°)과 rhamnosazone  
(m.p. 180°)을 生成하였다. 따라서 本物質은 acacetin을 非糖體로 하고 glucose-rhamnose를  
糖體로 하는 配糖體임이 밝혀졌다.

다음에 이 配糖體에 있어서 糖의 結合位置를 決定코자, 이 配糖體를 CH<sub>3</sub>I로 完全메틸화  
하고 이 反應物을 Et<sub>2</sub>O로 抽出한 다음 20% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液으로 加水分解하였을 때에 m.p.  
262°의 白色針晶이 생겼다. 이것을 標準品인 apigenin-5, 4'-dimethylether<sup>10-12)</sup> (m.p. 262°)  
와 混融試驗한 結果 融點降下가 없었으므로 이 配糖體는 糖이 acacetin의 7位置에 結合된  
acacetin-7-rhamnoglucoside임이 證明되었다. 現在까지 文獻에 記載된 acacetin-7-rhamno-  
glucoside에 屬하는 配糖體로서는 linain, acaciin, fortunellin 및 *Cirsium purpureum*에서 分離한  
物質 등이 있으며 著者가 分離한 配糖體의 性質은 linarin과 相似하였다(Table 1). 따라서 本  
物質과 linarin과를 混融試驗하여 본 結果 融點降下가 없었고 PPC에서도 同一한 R<sub>f</sub>值를 얻

Table I. —Acacetin glycosides previously reported.

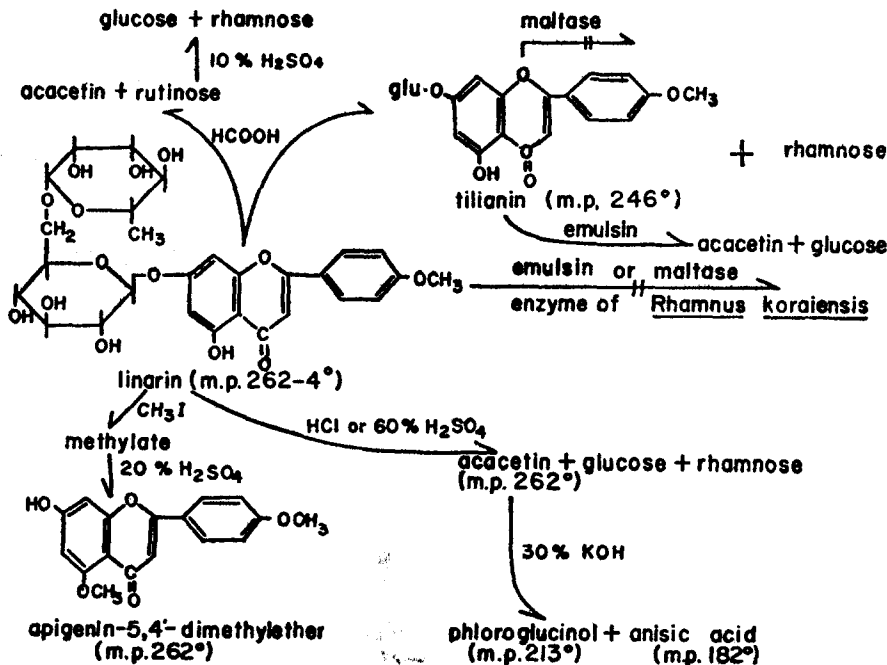
Name	Occurance	Formula	m.p.	m.p. of Acetate	References
This glycoside	<i>Chrysanthemum sibiricum</i>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> · 1½H <sub>2</sub> O (7-rutinoside)	262—4°	123—5°	
Linarin	<i>Linaria vulgaris</i>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> · H <sub>2</sub> O or 1½H <sub>2</sub> O (7-rutinoside)	265°	123—5°	12, 15~18
Acaciin	<i>Robinia pseudacacia</i>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> · 4H <sub>2</sub> O (7-rhamnoglucoside)	263°		13, 14
Cirsium glycoside	<i>Cirsium purpureum</i>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> · 2H <sub>2</sub> O (7-rhamnoglucoside)	253—4°		18
Fortunellin	<i>Fortunella spee.</i>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> (7-rhamnoglucoside)	215°		19
Synthesised		C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub> (7-cellobioside)	256—7°		17
Tilianin	<i>Tilia japonica</i>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub> · 2½H <sub>2</sub> O (7-glucoside)	245°		7

었다. 以上과 같이 本配糖體와 標準 linarin 과의 比較試驗만으로도 本配糖體가 linarin 임을 推定할 수 있었으나 더 確證을 얻기 위하여 本配糖體의 糖部가 linarin 의 糖部인 rutinose 인가의 與否를 試驗코자 하였다.

著者は 이試驗法으로서 瀧野, 今川等<sup>20)</sup>의 酵素分解法을 適用하였는데 그들이 酵素分離用으로 使用하였던 植物인 *Rhamnus japonica* 와 近緣인 *Rhamnus koraiensis* 에서 分離한 enzyme 를 本配糖體에 作用시켜 보았다. 그 結果 著자가 얻은 enzyme 이 本配糖體에는 作用치 않았었고 rutin 에만 作用하였으므로 著者は 本配糖體의 糖이 rutinose 가 아니든가 또는 rutinose 이면서도 enzyme 의 特異性으로 因하여 分解되지 않은 것인가를 論斷하기가 困難하였다. glycosidase 의 特異性에 關하여는 이미 岡田, 岸等<sup>21)</sup>도 hesperidinase( $\beta$ -1,6-glucorhamnosidase)가 hesperidin(hesperetin-7- $\beta$ -rhamnoglucoside), linarin(acacetin-7- $\beta$ -rhamnoglucoside)에는 作用하지만 rutin(queracetin-3- $\beta$ -rhamnoglucoside), narcissin(isorhamnetin-3- $\beta$ -rhamnoglucoside)에는 作用치 않는다는 事實을 指摘한 바 있으므로 著者は 本配糖體의 糖을 究明하기爲하여 酸分解를 試圖하였다.

著者は Fox, Savage 等<sup>22)</sup>의 方法에 의하여 本配糖體를 蟻酸으로 分解시켜 豫期한 바와 같이 그 分解產物로서 rutinose 를 비롯하여 acacetin, acacetin-7-glucoside(tilianin), glucose, rhamnose 를 얻고 PPC 에 의하여 各各 證明할 수 있었다. 이와 같이 하여 本配糖體의 加水分解產物로서 rutinose 를 證明할 수 있었으므로 本配糖體가 linarin 임을 確證할 수 있었다. 그런데 linarin 의 構造에 關하여는 아직도 論議되어야 할 問題가 남아 있다. Zemplén, Bognár

Chart I



等<sup>17)</sup>이 linarin 을 합성하므로써, linarin 의 glucosidic linkage 는  $\beta$  配位에 의한 配糖體일 것을 暗示하였으나, 直接的인 證明은 없었으므로 著者는 linarin 의 glucosidic linkage 의 配位까지도 糾明코자 하였다. 이를 糾明하기 爲하여 linarin 이 emulsin, maltase 의 兩者 中의 어느 것에 의하여 作用을 받는가를 試驗한 結果 linarin 自體는 emulsin, maltase 等の 作用은 받지 않았으나, 本配糖體의 蟻酸分解에 의하여 얻어진 tilianin 이 maltase 와는 作用치 않고 emulsin 과는 作用하였으므로 本配糖體의 glucosidic linkage 는  $\beta$  結合임을 確證하게 되었다. 本 實驗 結果에 의하면 現在까지 報告되어 있지 않은 tilianin 의 glucosidic linkage 도  $\beta$  結合임이 아울러 糾明되었다.

以上 研究를 Chart I 에 表示하였다.

### 實 驗

**配糖體의 抽出**——本研究의 原料植物을 잘게 썰고 말려서 그 1 kg 를 MeOH 로 溫浸(3×4 hrs.)하였다. 그 浸出液을 거르고 濃縮하여 놓아 두면 거의 白色으로 보이는 顆粒體가 많이 析出하게 된다. 이 析出된 顆粒體를 MeOH 로 씻고 다시 CHCl<sub>3</sub> 로 씻으면 不純物은 거의 除去된다. 이것을 pyridine 에 넣고 加熱하여 溶解시켜 하룻밤 놓아 두었다가 걸러서 그 濾液에 活性炭을 넣고 끓인 다음 다시 거른다. 이 濾液에 MeOH 를 넉넉히 붓고 2~3 日間 놓아 두면 흰 顆粒이 析出하게 된다. 이것을 다시 pyridine 에 녹히고 위와 같은 方法을 몇 차례 反復하면 엷은 노란 색깔이 도는 結晶 3 g 를 얻게 된다. m.p. 262~4°.

*Anal.* Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>14</sub> · 1½H<sub>2</sub>O: C, 54.28; H, 5.69; Crystal H<sub>2</sub>O, 4.36. Found: C, 54.27; H, 5.67; Crystal H<sub>2</sub>O, 5.86.

**配糖體의 acetyl 化**——配糖體 0.3 g 에 無水 pyridine 4 ml 와 Ac<sub>2</sub>O 4 ml 를 넣고 水浴溫에서 3 時間 加熱한 뒤에 그 反應物을 얼음물에 조금씩 저어가면서 붓고, 하룻밤 놓아 둘 때 沈澱物이 생기는데 이것을 걸러 모아 물로 씻고 60% EtOH 로 再結晶시키면 無色結晶을 얻게 된다. 이 結晶을 EtOH 溶液에 녹히고 FeCl<sub>3</sub> 水溶液을 떨어뜨릴 때 棕色反應이 나타나지 않았다. m.p. 123~5°.

*Anal.* Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>25</sub>O<sub>14</sub>(CH<sub>3</sub>CO)<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O: C 55.75; H, 5.35. Found C, 55.94; H, 5.30

**配糖體의 加水分解**——配糖體 5 g 에 60% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液 500 ml 를 붓고 水浴溫에서 加溫하여 주면 結晶이 녹으면서 黃褐色溶液으로 되는 한편 짙은 黃色의 非糖體가 생기게 된다. 이 非糖體를 걸러 모아서 70% Me<sub>2</sub>CO 에서 再結晶하면 m.p. 262° 의 엷은 黃色의 結晶을 얻게 되고 *Robinia pseudacacia* 에서 抽出한 acacetin (m.p. 262°)과 混融試驗을 하여 볼 때 融點降下가 없을 뿐 아니라 PPC\*에서도 兩者의 R<sub>f</sub> 值가 一致하였다. R<sub>f</sub> 0.92(BuOH: HAC: H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 19±1° for 20 hrs.); acacetin 0.92.<sup>23)</sup>

*Anal.* Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>: C, 67.60; H, 4.23. Found C, 67.79; H, 4.29.

**acacetin 의 acetyl 化**——非糖體 0.5 g 에 Ac<sub>2</sub>O 10 ml 와 無水 NaAc 1 g 를 넣고 直火에서 1

\* 本 實驗에서 施行한 PPC 에 있어서의 方法은 一次 上昇法이며 濾紙는 Whatmann No. 1. (길이 40 cm, 폭 2 cm)을 使用하였고, 棕色試藥으로 flavone 體에는 2% EtOH 性 FeCl<sub>3</sub> Soln. 을, 糖에는 0.1% KMnO<sub>4</sub>+0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Soln. 을 各各 利用하였다.

時間 加熱한 뒤에 얼음물에 조금씩 저어 가면서 붓고 하룻밤 놓아 둘 때 沈澱이 생긴다. 이 沈澱을 걸러 모으고 EtOH에 녹혀서 活性炭을 써 再結晶시키면 m.p. 201°의 白色沈澱이 생기는데 이것을 놓아 두면 차차 紅色으로 變하고 또 EtOH溶液은 FeCl<sub>3</sub>水溶液을 떨어뜨려도 褐色하지 않는다. 이 acetate에 10% HCl水溶液을 붓고 直火에서 暫時 加熱한 後에 생기는 沈澱을 70% Me<sub>2</sub>CO로 再結晶하여 보면 acacetin을 回收하게 된다. 이 acetate와 標準品인 diacetylacacetin(m.p. 201°)과 混融試驗을 하여 보았으나 融點降下가 없었다.

*Anal.* Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>(CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>: C, 65.20; H, 4.39. Found: C, 64.87; H, 4.63.

acacetin의 alkali 分解——非糖體 0.2 g를 30% KOH水溶液 7 ml에 녹히고 3時間 油浴上에서 加熱하고 식힌 다음에 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液으로 中和하여 少量의 NaHCO<sub>3</sub>로 弱alkali性이 되도록 한 後 Et<sub>2</sub>O로 몇 차례 흔들어서 모은 Et<sub>2</sub>O層을 脫水하고 蒸溜하면 結晶이 남게 된다. 이것을 물로 再結晶시키면 m.p. 213°의 粒狀結晶을 얻게 되는데 이 物質은 松材反應을 나타내고 또 FeCl<sub>3</sub>水溶液에서는 靑紫色의 褐色反應을 나타내는 등, phloroglucinol이 지닌 性質에 一致하였다. Et<sub>2</sub>O層을 分離한 水層은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液으로 酸性으로 하고 이것을 Et<sub>2</sub>O로 몇 차례 흔들어서 모아서 脫水하고 蒸溜하면 結晶을 얻게 된다. 이것을 물로 再結晶시키면 m.p. 182°의 白色結晶을 얻게 되고, 標準品인 anisic acid(m.p. 182°)와 混融試驗을 하여 보아도 融點降下가 일어나지 않았다.

糖의 檢索——配糖體를 60% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液으로 加水分解시킬 때 얻어진 糖液을 BaCO<sub>3</sub>로 中和하여 생긴 沈澱을 걸러 버린 다음 濾液을 濃縮시키고 無水EtOH로 여러 차례 溫浸하여 모은 溶液을 蒸溜하면 約 0.5 g의 濃縮物을 얻게 된다. 여기에 鹽酸 phenylhydrazine 1 g와 NaAc 1.5 g, 물 100 ml를 넣고 HAc로 充分히 酸性으로 한 다음 水浴溫에서 加溫하여 주면 黃色結晶이 많이 생기게 된다. 이 結晶에 Me<sub>2</sub>CO를 부어 加溫할 때 녹는 部分을 50% EtOH로 再結晶하면 m.p. 180°의 rhamnosazone을 얻게 되고 Me<sub>2</sub>CO에 녹지 않는 部分에서는 같은 方法으로 處理하여 m.p. 203°의 glucosazone을 얻게 된다. 또 上記 無水EtOH 溫浸液에서 얻은 濃縮物에서는 PPC로 glucose, rhamnose를 證明하였다.

*Rf* 0.10, 0.28(BuOH:EtOH:H<sub>2</sub>O=5:1:4, at 22±1° for 20 hrs.); glucose 0.10, rhamnose 0.27. *Rf* 0.17, 0.35(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 19±1° for 20 hrs.); glucose 0.17, rhamnose 0.34. *Rf* 0.09, 0.24 {BuOH:EtOH:H<sub>2</sub>O:NH<sub>3</sub> =45:5:49:1(1% w/vNH<sub>3</sub>), at 19±1° for 20 hrs.}; glucose 0.09, rhamnose 0.25.

糖의 結合位置의 決定——配糖體 1.5 g와 KOH 3.8 g에 물을 조금 부어서 죽 모양으로 만들고 여기에다 CH<sub>3</sub>I 5 ml를 넣고 水浴溫에서 24時間 加溫하여 주면 上層은 黃色이 되고 下層은 赤色이 되었다. 反應이 끝난 뒤에 물 80 ml로 稀釋시키고 CH<sub>3</sub>I를 水浴溫에서 蒸發시키면 赤褐色液으로 되는데 이것을 식힌 다음 Et<sub>2</sub>O로 여러 차례 흔들어서 모은 Et<sub>2</sub>O層을 脫水하고 蒸溜하면 匂 모양의 物質이 남게 된다. 이 物質의 EtOH溶液은 FeCl<sub>3</sub>水溶液을 떨어뜨려도 褐色하지 않았다. 이 物質을 EtOH에 녹히고 여기에 20% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液을 붓고 水浴溫에서 1時間半 加溫하면 結晶體가 析出하게 되는데 그 濾液은 Fehling 試液을 還元시켰다. 이 結晶體를 活性炭으로 脫色하고 70% EtOH에서 再結晶시키면 m.p. 262°의 純白色結晶을 얻게 되고 이것을 *Apium petroselinum*에서 抽出한 apiin을 處理하여 얻은 apigenin-5, 4'-dimethylether(m.p. 262°)와 混融試驗을 하여 볼 때 融點降下가 일어나지 않았다.

**Rhamnus koraiensis** 에서 enzyme 의 調製——種子 의 겹질을 벗기면 黃色을 띤 胚乳部가 나타나는데 新鮮한 種子 約 50 g에서 胚乳를 約 10 g 얻게 된다. 이 胚乳를 곱게 빻고 Et<sub>2</sub>O 로 脫脂한 殘渣에 물을 넣고 놓아 두었다가 그 上澄液에 4 倍量 가량 되는 EtOH 를 부으면 白色沈澱이 생기게 된다. 이것을 遠心分離한 다음 沈澱을 80% EtOH, 無水 EtOH, Et<sub>2</sub>O 의 順으로 씻어 말리면 灰色粉末 約 650 mg 를 얻게 되며 이것을 enzyme 로 使用하였다.

**酵素作用의 檢定 및 配糖體에 對한 作用**——rutin 237 mg 를 蒸溜水 8.5 ml 에 현탁시키고 여기에 上記 enzyme 粉末 70 mg 를 넣은 다음 防腐의 目的으로 Et<sub>2</sub>O 를 조금 붓고 매때로 저어 주면서 30° 에서 3 日間 反應시켰다. 이렇게 하면 서서히 짙은 黃色의 結晶이 나타나며 이 結晶은 m.p. 300° 附近에서 녹지않고 또 그 PPC 에서도 標準品인 quercetin 과 Rf 値가 一致하였다. Rf 0.92(BuOH : HAc : H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 11~13° for 16 hrs.); quercetin 0.92. 그 結晶을 거른 濾液은 水浴溫에서 30 分間 加熱하여 enzyme 을 凝固시켜 걸러 버리고 그 濾液을 水浴溫에서 濃縮시켰다. 이 濃縮物은 瀧野法<sup>20)</sup>에 準한 PPC 에서 單一한 spot 를 나타냈으므로 rutinose 임을 推測할 수 있었다. Rf 0.09(BuOH : HAc : H<sub>2</sub>O=4:1:1, at 17±1° for 15 hrs.). 이것을 確認하기 위하여 이 濃縮物에 同量의 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液을 붓고 水浴溫에서 2 時間 加熱한 다음에 BaCO<sub>3</sub> 로 中和하여 생긴 沈澱을 거르고 그 濾液을 濃縮한 後 PPC 試驗을 하여보면 最初에 나타났던 spot 는 完全히 없어지고 그 代身 glucose, rhamnose 에 一致하는 2 個의 spot 를 나타냈으므로 試驗한 濃縮物에는 rutinose 가 있음을 確認하였다. Rf 0.075, 0.3(BuOH : HAc : H<sub>2</sub>O=4:1:1, at 8-13° for 16 hrs.); glucose 0.075, rhamnose 0.3. 이와 같이 하여 本 enzyme 는 rutin 을 quercetin 과 rutinose 로 分解할 수 있는 活性이 있음을 認定할 수 있었다.

이 enzyme 를 使用하여 配糖體 0.2 g 를 上記 rutin 과 같은 條件에서 1 週日間 反應시켜 보았으나 原配糖體를 回收하였을 뿐이므로 이 配糖體는 이 enzyme 에 依하여서는 分解되지 않는 것을 알았다.

**配糖體의 蟻酸에 依한 分解**——配糖體 1.6 g 에 cyclohexanol 150 ml 를 부어 加熱하여 溶解시키고 여기에 冷却器를 通하여 蟻酸 70 ml 를 조금씩 떨어뜨린 다음 110° 에서 10 時間 加熱하였다. 다음에 이 反應物을 水浴溫에서 完全히 말려 굳힌 다음에 蒸溜水로 몇 차례 浸出하고 그 浸液(糖液)을 水浴溫에서 濃縮시키면 기름 같은 物質이 뜨게 되는데 이것을 걸러 버리고 그 濾液을 다시 거의 蒸發시킨 다음에 PPC 로 檢索해서 rutinose, glucose, rhamnose 를 證明할 수 있었다. Rf 0.09, 0.16, 0.30(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:1, at 17±1° for 15 hrs.); rutinose 0.09, glucose 0.16, rhamnose 0.30. 또 配糖體의 蟻酸 加水分解物을 蒸溜水로 浸出した 나머지 部分은 完全히 말린 다음 Me<sub>2</sub>CO 를 붓고 잘 흔들어서 하룻밤 놓아 두었다. 이것을 걸러서 그 濾液을 濃縮시킨 다음에 70% EtOH 에서 再結晶시키면 m.p. 262° 의 結晶을 얻게 되고 이 結晶은 acacetin 과 混融試驗할 때 融點降下가 일어나지 않았다. 다음 Me<sub>2</sub>CO 에 녹지 않은 部分은 Me<sub>2</sub>CO, 물의 順으로 씻고 EtOH 에 加溫하여 溶解시킬 때 녹지 않은 未反應物을 걸러 버린 뒤 이 濾液을 活性炭으로 脫色시킨 다음 濃縮하면 結晶을 얻게 된다. 이것을 EtOH 에서 再結晶시키면 m.p. 246° 의 얇은 黃色結晶을 얻게 되고 이 結晶은 PPC 에서 標準品인 tilianin(acacetin -7-glucoside m.p. 245°)과 一致함을 알았다. Rf 0.95(BuOH : HAc : H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 22±1° for 15 hrs.); tilianin 0.96, mixture 0.95.

**配糖體와 linarin 과의 比較**——配糖體와 標準品인 linarin 과 混融試驗한 結果 融點降下가 없었으며 PPC에서도 同一한  $R_f$  值를 나타냈다.  $R_f$  0.71(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 22—4° for 14 hrs.); linarin 0.70, mixture 0.70.  $R_f$  0.94(60% HAc, at 18—9° for 14 hrs.); linarin 0.94, mixture 0.94.  $R_f$  0.93(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:2, at 17—8° for 12 hrs.); linarin 0.93, mixture 0.92.

**emulsin의 調製 및 그 作用의 檢定**——杏仁을 原料로 하여 Willstätter-Csányi法<sup>24)</sup>에 準하여 emulsin을 調製하였다. 即 杏仁을 60—70°의 물에 約 20分間 담가 두었다가 겉질을 벗기고 말려서 기름의 大部分을 壓搾하여 除去하고 다시 Et<sub>2</sub>O로 抽出하여 脫脂한 다음 잘 말려서 粉末로 하였다. 이 粉末 100g에 0.1 N-NH<sub>4</sub>OH 250 ml를 부어 잘 저은 다음 물 100ml를 붓고 5時間 혼든 뒤에 抽出된 液을 分離하였다. 殘渣에 다시 0.1 N-NH<sub>4</sub>OH 20ml와 물 200 ml를 부어 抽出한 다음 前後 抽出液을 合하고 여기에 0.1 N-HAc 300 ml를 부으면 沈澱이 생기게 된다. 이것을 濾過하여 버리고 그 濾液에 4倍 가량 되는 EtOH를 부을 때 생기는 沈澱을 遠心分離하여 無水 EtOH, Et<sub>2</sub>O의 順으로 씻고 말려 白色 enzyme를 만들었다.

이렇게 얻은 enzyme의 活性을 檢定하기 위하여 amygdalin 50 mg를 pH 4.7의 NaAc buffer soln. 8 ml에 溶解시키고 enzyme 50 mg와 防腐의 目的으로 少量의 CHCl<sub>3</sub>를 넣고 마개를 꼭 막은 다음 가끔 흔들면서 30°에서 2日間 놓아 두었다가 마개를 열 때 심한 benzaldehyde의 냄새가 났고 HCN反應도 나타났으며 또 이 溶液을 水浴溫에서 加熱하여 enzyme을 凝固시켜서 걸러 버린 濾液을 濃縮하여 PPC로 glucose를 確認할 수 있었다.  $R_f$  0.16 (BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:1, at 17±1° for 15 hrs.); glucose 0.16. 以上の 實驗으로 이 enzyme는 amygdalin을 glucose, benzaldehyde, HCN으로 分解할 수 있는 活性이 있음을 알 수 있었다.

**tilianin, linarin 等에 對한 emulsin의 作用**——linarin의 蟻酸分解에서 얻은 tilianin 50 mg를 pH 4.7의 NaAc buffer soln. 20 ml에 懸탁시키고 emulsin 100 mg와 防腐의 目的으로 CHCl<sub>3</sub> 少量을 넣은 다음 가끔 흔들면서 30°에서 1週日間 反應시켰다. 이 때 서서히 엷은 黃色結晶이 析出하였으며 反應後 濾過하여 얻은 結晶은 m.p. 262°(70% alcohol)이고 PPC에서 acacetin과 一致함을 알았다.  $R_f$  0.96(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 22±1° for 15 hrs.); acacetin 0.96, mixture 0.95. 또 그 濾液은 水浴溫에서 15分間 加熱하여 enzyme을 凝固시켜 걸러 버리고 그 濾液을 水浴溫에서 거의 蒸發시켜 PPC로 糖을 檢索하여 본 結果 1個의 spot만 나타나고 그  $R_f$  值는 glucose와 一致하였다.  $R_f$  0.06(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O=4:1:5, at 22±1° for 15 hrs.); glucose 0.06. 以上과 같은 試驗에서 tilianin은 emulsin에 依하여 acacetin과 glucose로 分解됨을 알 수가 있었다.

linarin도 上記 tilianin과 같은 條件에서 emulsin을 30日間이나 作用시켜 보았으나 原物質을 回收하였을 뿐이고 또 그 溶液에서도 PPC로 試驗하여 보았으나 아무 糖도 檢出되지 않았다.

**maltase의 調製 및 効力の 檢定**<sup>25-26)</sup>——白米麴 約 500 g를 2倍 가량의 蒸溜水로 3時間 冷浸하고 거른 濾液에 EtOH를 부어서 생기는 沈澱을 다시 100 ml의 蒸溜水에 溶解시켜 녹지 않는 沈澱을 걸러 버리고 그 濾液에 EtOH를 부어서 75%가 되도록 할 때 생기는 沈澱을 모아서 말리면 灰褐色粉末을 얻게 된다. 이렇게 만든 maltase를 pH 4.7(NaAc buffer



soln.) 溫度 30°에서 1週間 maltose에 作用시킨 뒤에, enzyme을 凝固시켜서 걸러 버린 濾液을 濃縮시키고 PPC로 試驗하여 glucose를 確認할 수 있었다.  $R_f$  0.09(BuOH:HAc:H<sub>2</sub>O = 4:1:5, at 11—13° for 16 hrs.); glucose 0.09. 따라서 이 enzyme는 maltose를 glucose로 分解할 수 있는 活性을 認定할 수 있었다.

tilianin, linarin 等에 對한 maltase의 作用——tilianin, linarin 各各 50 mg에 pH 4.7의 NaAc buffer soln. 20 ml를 부은 다음 maltase 100 mg와 防腐의 目的으로 CHCl<sub>3</sub> 少量을 넣고 가끔 흔들면서 30°에서 1週日間 反應시켜 보았으나 아무 變化도 認定하지 못하였다.

### 結 論 및 考 察

1) 九折草 *Chrysanthemum sibiricum* FISCHER에서 m.p. 262—4°의 結晶을 얻어, 이를 HCl로 加水分解하여 acacetin, glucose, rhamnose 等を 各各 單離하였으며, 標準品과의 混融試驗, PPC 等의 比較試驗으로 本結晶이 linarin임을 推測하였고, 本物質의 蟻酸 分解產物中에서 rutinose의 存在를 確認함으로써 本配糖體가 linarin임을 確實히 하였으며, 現在까지 *Linaria vulgaris*(Rhinanthaceae),<sup>15)</sup> *Buddleia variabilis*(Loganiaceae)<sup>12, 16)</sup> 等 2植物에서만 알려져 있던 linarin이 科를 달리하여 Compositae에서도 出現함을 밝혔다.

2) linarin의 結晶水에 對하여 Merz<sup>15)</sup>는 1 mol를, Baker<sup>12)</sup>는 1½ mol를 各各 記載하였는데 著者의 경우에는 1½ mol에 해당하였다.

3) *Rhamnus koraiensis*에서 얻은 enzyme가 rutin(querctetin-3-rutinoside)은 分解하나 linarin(acacetin-7-rutinoside)은 分解하지 않았다.

4) Fox, Savage 等<sup>22)</sup>이 flavonoid의 rhamnoglucoside를 蟻酸으로 分解하여 monoside인 glucoside를 捕捉한 方法은 이 系列의 非糖部의 研究뿐만 아니라 糖部의 檢索에도 利用할 수 있다는 知見을 얻었다.

5) linarin自體는 emulsin의 作用을 받지 않으나 이의 分解物인 tilianin은 emulsin의 作用을 받아 acacetin과 glucose로 分解되어, linarin과 tilianin 等の glucosidic linkage는 β結合임을 分明히 하였다.

6) flavone의 2糖體에 對하여 emulsin 或은 maltase가 作用한다는 報告는 없고, 特히 apiin<sup>27)</sup>은 이들의 作用을 안 받는다고 明示되어 있다. 이들도 上記 linarin의 경우와 같이, 單糖體로 誘導하던 emulsin 或은 maltase에 依하여 分解되는지의 與否는 研究中이다.

本 研究에 있어 많은 助言을 하여 주신 李南淳, 禹麟根 兩教授, 實驗을 協力하여 주신, 李聖圭, 崔柄大 兩碩士, 貴重한 標本을 보내주신 靜岡大學의 中林敏郎, 富山大學의 森田直賢 兩教授에게 深甚한 謝意를 表한다.

### REFERENCES

1. 鄭, 韓國植物圖鑑(下), 693 (1956), 新志社, 서울.
2. 大井, 日本植物誌, 1186 (1961), 至文堂, 東京.
3. 李, 朴, 第10回 大韓藥學會學術大會에서 發表,
4. 山口, 植物成分分析法(中), 234 (1959), 南江堂, 東京.
5. A. G. Perkin, *J. Chem. Soc. (London)*, 77, 430 (1900).
6. 服部, 植物色素, 164 (1936), 岩波書店, 東京.

7. 中沖, 森田, 岸谷, *J. Pharm. Soc. Japan*, **80** 1743 (1960).
8. 中沖, 森田, 基常, *J. Pharm. Soc. Japan*, **75** 174 (1955).
9. 朝比奈泰彦 報文集 (化學之部), 35 (1934), 丸善, 東京.
10. E. Vongerichten, *Ber.*, **33** 2908 (1900).
11. J. Czajkowski, St. v. Konstanecki und J. Tambor, *Ber.*, **33** 1993 (1900).
12. W. Baker, R. Hemming and W. D. Ollis, *J. Chem. Soc. (London)*, **1** 694 (1951).
13. 服部, 植物色素 104 (1936), 岩波, 東京,
14. G. Zemplén and L. Mester, *Magyar Kén Folyóirat*, **56** 2 (1950) [C. A. **45** 7977 e (1951)].
15. K. W. Merz and Y. H. Wu, *Arch. Pharm.*, **274**, 126 (1936) [Chem. Zentr., **107** 2749, 4913 (1936)].
16. M. Hsieh Yü, *Bull. Soc. Chim. biol.*, **15** 482—497 (1933) [Chem. Zentr., **104** 2544 (1933)].
17. G. Zemplén, R. Bognár, *Ber.*, **74** 1818 (1941).
18. 中沖, 森田, *J. Pharm. Soc. Japan*, **79** 1340 (1959).
19. 松野, *J. Pharm. Soc. Japan*, **78** 1311 (1958).
20. 龍野, 今川, 吉田, *J. Agri. Chem. Soc., Japan*, **36** 943 (1962).
21. 岡田, 岸, *ibid.* **37** 142 (1963).
22. D. W. Fox, W. L. Savage, *J. Am. Chem. Soc.*, **75** 2504 (1953).
23. E. Lederer and M. Lederer, *Chromatography* 380 (1957) Elsevier, New York.
24. 大幸, 眞島, 紫田, 化學實驗學, 第二部, **12** 633 (1947), 河出, 東京.
25. 大幸, 眞島, 紫田 *ibid* 628 (1947).
26. 赤堀, 酵素研究法, 第2卷, 98 (1957), 朝倉, 東京.
27. 服部, 植物色素, 160 (1936), 岩波, 東京.