

秋石에 관한 연구(VI)*

皂莢꼬투리의 Prosapogenin에 대하여

李 殷 玉 · 柳 彩 善

淑明女子大學校 藥學大學

Study on "Chu-Suk"(VI)

Prosapogenin in Pods of *Gleditschia officinalis*

Eun Ock LEE and Chae Seun Yu

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University

From the crude saponin obtained from the pods of *Gleditschia officinalis* seven spots were identified by TLC and quantity of gleditschia B was the highest among them. Ten kinds of prosapogenins were identified from the partial hydrolysates of crude saponin and found that prosapogenin E contain oleanolic acid as a sapogenin and prosapogenin F does echinocystic acid as the sapogenin. Hydrolysis of crude saponin yield glucose and rhamnose and the same sugar were also identified from the mixture of prosapogenin E and F.

서 론

秋石은 一名 秋冰³⁾이라고 하여, 900餘年前 宋時代부터 記載된 漢藥으로서는 比較的 年輪이 적은 石藥의 一種으로서, 不老長壽藥, 또는 強壯, 強精藥으로 널리 알려진 有名한 漢藥이다.

本草綱目的 秋石의 製法²⁾으로는 여섯가지가 記載되어 있는데 그중에 水雲錄에서 引用한 陽煉法은 童子尿에 皂莢의 生計을 加하여 秋石을 製造하는 方法이 있다.

Needham과 魯桂珍은⁴⁾이 方法을 檢討하고 皂莢中の saponin이 童尿中の 3 β -Hydroxy steroids

¹⁾ 皂莢은 조각자나무의 果實로서 꼬투리와 조각仁(種子)으로 區別됨.

를 不溶性 分子化合物로 沈澱 시키기 때문에 秋

石中에는 結晶性 steroid-hormone이 含有될 것 이라고 發表하였다.

따라서 秋石은 hormone學說 數世紀前에 東洋에서 使用한 최초의 hormone劑라고도 할 수 있다.

著者は 秋石의 本態를 究明하는 同時에 Cutting⁵⁾이 *Gleditschia horrida*에서 triterpenoid saponin(mp 190~195°, 210~215°)을 얻어 antifertility effect의 生理活性이 있다는 보고도 있어 秋石製造의 原料로 使用되는 皂莢의 成分을 研究하고자 本實驗을 하였다.

皂莢의 꼬투리中에는, 약 18%나 되는 粗 saponin이 含有되어 있으며, 이들 各 saponin을 各 分離하여 化學構造를 決定할 目的으로 우선 粗 saponin을 部分을 加水分解시켜 製造한 pro-

* 大韓藥學會 第25回 總會에서 發表한 것임, (1976) 前報 淑大 論文集 16 457(1976), 本報는 鑛物性 漢藥에 관한 研究(X)임

sapogenin에 대하여 檢討한 結果와 松島⁶⁾ 등이 *Gleditschia horrida*에서 製造한 *Gleditschia saponin*(C₅₉ H₁₀₀ O₂; mp 216~218), *Gleditschia saponin*(C²⁷ H₄₆ O₈ mp 276~278), 五炭糖인 arabinose와를 比較檢討하는 동시에 桑田⁷⁾가 發表한 sapogenin(mp 299~300)인 hedragenin의 新異性體와, 藤井⁸⁾ 등이 發表한 gledgnin(m. p. 310)인 oleanolic acid의 異性體등을 追試하여서 確認한 結果를 이에 報告한다.

실험 방법

우리나라에는 주엽나무(*Gleditschia japonica* var. *koraiensis*), 민주엽나무(*Gleditschia japonica* var. *IMARMATA*), 아자비과줄(*Gleditschia japonica* var. *stenocarpa*), 조각자나무(*Gleditschia officinalis* HEMSLEY) 등이 있는데⁹⁾ 材料로는 우리나라 特産인 주엽나무가 豫備實驗結果 saponin 含量이 극히 적어, *Gleditschia horrida*와 同植物이라고 보고 되어져 있는 慶州産 조각자나무¹⁰⁾의 꼬투리를 細切하여 使用하였다.

Saponin 製造 皂莢의 꼬투리 1kg을 含水 MeOH로 8시간 抽出한 MeOH 엑기스를 MeOH에 다시 용해 시킨 후 Et₂O와 MeOH를 反復 使用하여 沈澱시켜 흡습성이 있는 여상의 粗saponin을 얻었다. 이 粗saponin은 TLC한 結果 A~G까지 7개의 spot를 나타내는 混合物임을 確認하였고 (Fig. 1) 그 중 B가 가장 많이 含有되어 있었다.

Prosapogenin 製造 및 糖 粗 saponin 200g을 MeOH과 물에 溶解 시키고 3% HCl로 1시간 水溶上에서 加水分解 시켰다. 이때 생성된 沈澱를 酸性에서 濾別한 濾液를 Ba(OH)₂로 中和하여 표준당과 함께 TLC하여 糖을 確認하였다 (Fig. 4). 또한 沈澱은 물로 세척 후 Et₂O로 추출하여 sapogenin 등을 제거하고 MeOH에서 탈색 精製하여 prosapogenin을 얻었다. 이를 TLC한 바 A~J까지 10개의 spot를 나타내는 混合物임을 확인 하였다(Fig. 2). 그중 가장 많이 含有되어 있는 E, F를 silicagel column chromatography(CHCl₃: MeOH: H₂O=52:15:1)로 分離

하고 E와 F의 分割을 함수 MeOH에 溶解시켜 5% HCl로 산성으로 하여 5시간 加水分解시켜 水層은 위와 같이 처리하여 TLC로 glucose와 rhamnose를 確認하였다(Fig. 4). Sapogenin은 TLC로 표준품과 비교하여 prosapogenin E는 oleanolic acid를 F는 echinocystic acid를 sapogenin으로 하고 있는 prosapogenin임을 確認하였다.

Sapogenin의 製造實驗 粗Saponin을 5% HCl-MeOH로 5시간 加水分解하여 前報¹¹⁾의 方法으로 분리하여 표준품과 비교하였다(Fig. 3).

松島方法에 의한 Gleditschia Saponin과 Gleditschia saponin 및 糖 Saponin의 製造는 조협의 꼬투리를 세질 含水 MeOH로 온침하여 추출한 엑기스를 약 5배량의 물에 용해 시켜 약 3%에 해당하는 HCl을 가하여 석출하는 침전을 여과 제거 시키고 여액을 직화상에서 3~5분 비등하면 다량의 갈색침전이 나온다 상온에서 1주야 放置하고 여과 세척한 후 건조 시킨다. 이것을 Et₂O로 추출하여 소량의 색소와 sapogenin등을 용해 제거하여 粗saponin을 얻었다. 이 粗 saponin을 50% EtOH에 용해하여 5% H₂SO₄로 5시간 加水分解 시킨 다음, 알콜을 제거 물을 가하여 석출하는 침전을 여과 세척한 후 Et₂O에 용해시켜 Et₂O층을 증발 잔사를 MeOH로 재精製하여 sapogenin을 얻었다. 그리고 가수분해 시킨 수층은 糖을 確認하는데 使用하였다.

桑田*方法에 의한 Sapogenin製造 上記 Saponin 製法과 대체로 同一하나 MeOH로 재精製하지 않고 acetone으로 재精製 하여 sapogenin을 얻었다.

藤井方法에 의한 sapogenin 製造 粗 saponin을 60% EtOH에 용해 시켜서 5~10% HCl 용액으로 하여 20시간 加水分解 시켰다. EtOH을 제거 시키고 물을 가해 생성된 침전을 여과하고 세척하여 Et₂O로 추출하여 그 엑기스를 MeOH에 용해하고 藥用炭으로 處理한 후 acetone으로 재精製 시켜 sapogenin을 얻었다.

* 桑田는 日本信州産조협을 原料로 하였으나, 著者는 *Gleditschia officinalis* Hemsley를 原料로 한 同一한 것으로 思慮됨.

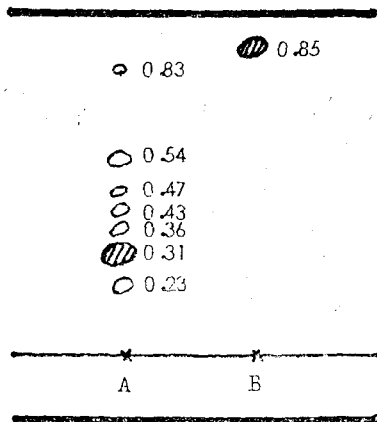


Fig 1. Chromatogram of saponin.
 Developer; CHCl_3 : MeOH:
 $\text{H}_2\text{O}:\text{HAC}=25:17:3:1.5$
 A; 粗 Saponin
 B; 松島の 粗 Saponin

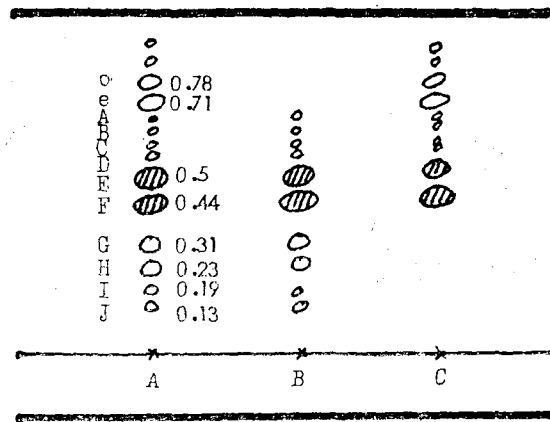


Fig 2. Chromatogram of prosapogenin.
 Developer; CHCl_3 : MeOH: $\text{H}_2\text{O}=52:15:1$
 A; 粗 Prosapogenin
 B; 松島の 粗 Saponin
 C; 粗 Prosapogenin의 ether층

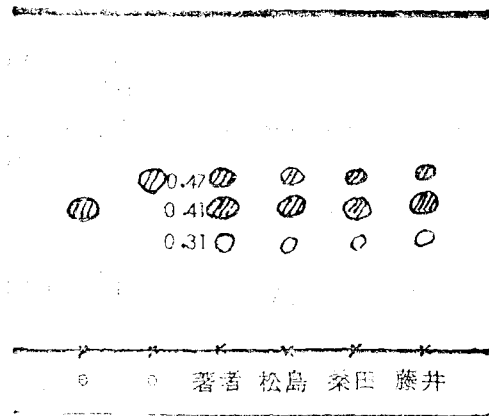


Fig 3. Chromatogram of sapogenin.
 Developer; Benzene: Acetone=4:1
 e; echinocystic acid
 o; oleanolic acid

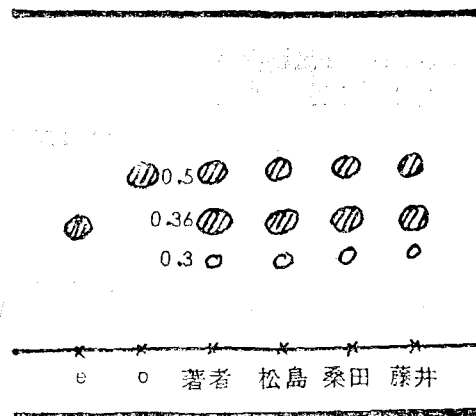
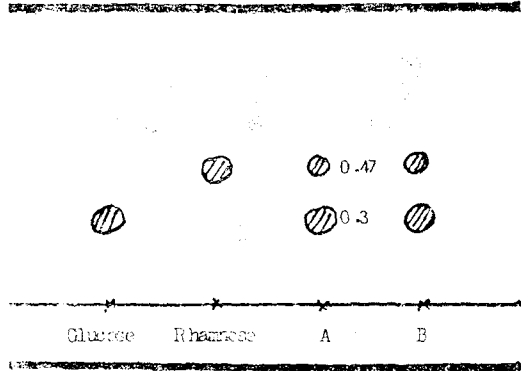


Fig 4. Chromatogram of glycon.
 developer; EtOAc: isoprpanol: $\text{H}_2\text{O}=65:35:17.5$
 A; 粗 saponin→genin
 粗 saponin→prosapogenin
 prosapogenin→genin } 가수분해 시 수층의 당
 B; 松島法에 의한 glycon



실험결과 및 고찰

松島の Gleditschia saponin($C_{59}H_{100}O_2$ m. p. 216~218°)의 製法이 藤井氏는 japoescinin에서 prosapogenin을 만드는 方法과 同一하다고 指摘하고, m. p. 216~218°의 無晶形 結晶인 Gleditschia saponin은 Gleditschia pro-sapogenin일 것이라고 推測하였다.

著者は 同一한 方法으로 製造하여 본바 이것은 Gleditschia prosapogenin의 混合物인 것을 確認하였으며 또한 粗 saponin의 3%-HCl 加水分解에 의해 만든 prosapogenin과 同一한 混合物임을 確認하였다.

또한 桑田⁷⁾는 松島等の Gleditschia sapogenin ($C_{27}H_{46}O_8$)의 組成式은 元素分析 및 誘導體等の 實驗結果로 미루어보아 不適當하다고 지적하고 Hedra-genin의 新異性體를 分離하였다고 보고하였다. 그러나 著者は 桑田, 松島, 藤井, 等の sapogenin 製造를 정확히 追試한 結果, m. p. 276~278°의 $C_{27}H_{46}O_8$ 과 m. p. 299~300°의 $C_{30}H_{48}O_4$, 과 m. p. 310의 $C_{30}H_{48}O_3$ (Oleanolic acid의 이성체) 등은 存在치 않으며 TLC한 結果, 各各 3개의 spot로 分離되며(Fig. 3), 표준품과 비교하여 確認한 結果 oleanolic acid($C_{30}H_{48}O_3$)와 echinocystic acid($C_{30}H_{48}O_4$)만이 Gleditschia officinalis의 saponin으로 存在함을 알았다.

Gleditschia saponin의 化學構造를 決定하는 方法으로 prosapogenin을 製造하였던바 prosapogenin은 10種이 確認되었으나 우선 가장 많이 含有되어 있는 prosapogenin E와 F를 各各分離 實驗結果, sapogenin으로 E는 oleanolic acid를 F는 echinocystic acid를 含有하고 있음을 確認하였으며 prosapogenin E, F의 混合物를 加水分解하여 糖으로 glucose와 소량의 rhamnose를 確認하였으며 이들의 ether층으로도 移行되는 點으로 보아 糖은 1~2개일 것으로 推測된다. 또한 松島는 五炭糖 arabinose를 얻었다고 하였으나 實驗結果 arabinose는 確認할 수 없었으며 gleditschia saponin은 糖으로서 glucose와 rhamnose 단을 含有하고 있음을 알수 있었다.

결론

1. 皂莢의 胚乳中의 粗 saponin은 TLC에 의하여 7개의 spot가 確認되었고, 그 중 gleditschia saponin B가 가장 많이 함유되었다.
2. 粗 saponin을 部分 加水分解하여 얻은 prosapogenin은 TLC에 의하여 10개의 spots가 確認되었고, 가장 많이 含有된 prosapogenin E는, oleanolic acid를, F는 echinocystic acid를 sapogenin으로하는 prosapogenin임을 確認하였다.
3. 粗 saponin의 酸 加水分解에 의해 六炭糖인 glucose, rhamnose를 確認하였고, prosapogenin E와 F의 混合物에서도 glucose와 rhamnose를 確認하였다.
4. 松島 등이 發表한 gleditschia saponin은 saponin이 아니라, prosapogenin의 混合物임을 確認하였고, gleditschia sapogenin은 確認할 수 없었으며 oleanolic acid와 echinocystic acid의 混合物임을 알았고, 糖도 역시 arabinose가 아닌 glucose와 rhamnose만을 確認할 수 있었다.
5. Gleditschia officinalis에는 sapogenin으로서 桑田 등이 發表한 hedragenin의 新異性體나, 藤井 등이 發表한 oleanolic acid의 異性體는, 存在하지 않으며, oleanolic acid와 echinocystic-acid만이 sapogenin으로 存在함을 確認하였다.

그리고 앞으로도 prosapogenin B, F, G, H의 化學構造와 saponin의 化學構造의 決定은 계속 研究하여 究明하고자 한다.

이 研究를 지도하여 주신 洪文和 教授님께 감사드리며 또한 실험에 많은 도움을 주신 여러 教授님께 감사 드립니다.

〈1978. 4. 1. 接受〉

문헌

1. 洪文和 : 韓國의 藥物性 漢藥(I) 생약학회지, 4, 140(1973).

Vol. 9, No. 2, 1978

2. 脇水鐵五郎：頭註日譯 本草綱目，第12册 第52卷，春陽堂，東京，1929.
3. 李殷玉：秋石에 關한 研究(II). 淑大論文集, 13, 401(1973).
4. 魯柱珍. Needham, J.: *Medical History*, 8, 101 (1964).
5. Cutting, W. C. et al: *Indian J. Exp. Biol.*, 9, 503 (1971).
6. 松島義一，久保田實：日藥誌, 48, 146 (1928).
7. 桑田智：日藥誌, 55, 1258 (1935).
8. 藤井勝也，松川泰三：日藥誌, 55, 1322 (1935)
9. 李昌福：植物分類學 P-175 (1957) 郷文社
10. 吉崎正雄：日藥誌 77, 1204(1957).
11. 李殷玉：韓藥誌 19. 111 (1975).