

Gas Chromatography에 의한 植物 Sterol檢索에 관한 研究(I)

藥 品 化 学 科
朴 聖 培 · 宋 翰 鎭

Studies on Plant Sterols by Gas Chromatography
Sungbae Park, Hanho Song

ABSTRACT:

Until a few years ago, the plant sterols were isolated and identified by comparison of melting points, specific rotations, thin-layer chromatographic spots and infrared spectra.

But the conventional procedures were difficult and sometimes inaccurate for their closely resembling physical properties.

By gas chromatography, recently developed, authors have investigated plant sterols on some pharmaceutically effective plants.

The results were as follows:

- 1) All crude drugs investigated contained β -sitosterol.
- 2) The mixture of campesterol and β -sitosterol, previously could not separate and known as γ -sitosterol, were also fully separated.
- 3) The contents of cholesterol was most in Lycii Fructus.

目 次

英文抄録

I. 緒 言

II. 實驗方法

1. 植物 Sterol의 抽出

2. 測定條件

III. 實驗結果

IV. 考察 및 結論

参考文献

1. 結 言

오래 前부터 많은 植物 sterol이 여러 植物이나 生藥中에서 分離確認되고 報告되어 오고 있다. 그런데 從來에는 주로 복잡한 抽出 精製過程을 거쳐 單離한 다음 free state 또는 ester의 形態로 그 融点이나 旋光度를 測定하여 同定하였거나 赤外吸收 spectrum이나 薄層 chromatography 등으로 確認 同定하여 왔다.

그러나 이들 植物 sterol이 가진 化学 構造上 또는 物理的 性状의 類似性 때문에 分離確認이 지극히 어렵거나 때로는 不正確하여 錯誤를 일으킬 수도 있었다고 본다.

지금까지 γ -sitosterol 이라고 생각했던 것이 Nishioka 등에 의하여 campesterol과 β -sitosterol의 混合物이란 것이 밝혀진 것도 gas chromatography에 依해서였다.

最近 gas chromatography의 急速한 進歩로 이들 構造나 性状이 類似한 物質을 迅速하게 分離確認할 수 있게 되었다.

Tsukamoto 등은 두가지의 다른 column을 使用하여 211種의 生藥에 對하여 nonglycosidal sterol과 triterpene의 分布狀態를 調査報告 하였으며 Nishioka 등은 1種의 column을 써서 sterol의 分離確認法을 여러 角度에서 면밀하게 檢討研究 하였다.

또 Patterson은 4種의 다른 column으로 RRT(Relative Retention Time)와 化学構造上的 關係를 檢討하여 그 關聯性을 追求하였으며 Popius-Peereboom은 G. C와 T. L. C를 combination시켜 植物 sterol을 檢索하려고 試圖하였다.

著者等은 夏枯草等 數種生藥에 對하여 3% SE-30을 充填한 glass column을 쓴 水素炎 離子化檢出器로 植物sterol을 檢索해 보았던바 그 結果를 報告한다.

II. 實驗方法

1. 植物sterol의 抽出

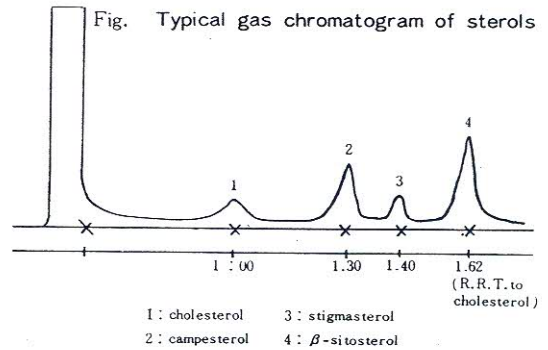
檢體를 細切하여 各各 200g씩 取하고 methanol로 2~3回 溫浸(50°)한 다음 水浴上에서 methanol을 溜去하고 殘留物은 石油 ether로 抽出한 다음 石油 Et-

her을 揮散시켰다. 石油 ether 抽出物에 10% alcoholic KOH 30ml를 加하고 水浴上에서 30分間 還流시킨 다음 水浴中에서 alcohol을 揮散, 농축하였다.

여기에 물20ml를 加하고 ether 100ml로 잘 진탕 抽出하고 ether 抽出物은 물 소량씩으로 2~3回 세척한 다음 ether을 低温에서 揮散시켜 소량의 微黃色物質을 얻었다. 이 物質을 ethanol로 1回 精製하여 G. C用 試料로 하였다.

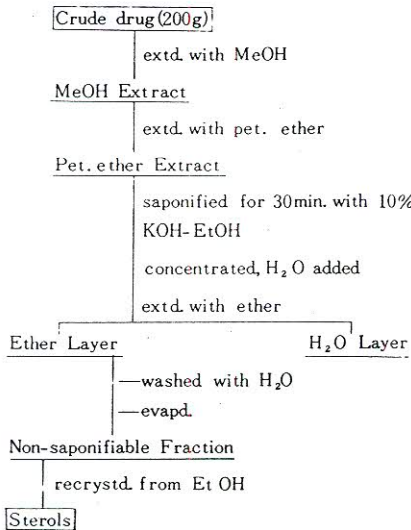
2. 測定條件

gas chromatogram의 形態와 測定條件은 다음과 같다.



機器 : Varian aerograph model 204
column : glass column 5 feet× 1/4 inch
充填劑 : 3% SE-30 on Chromosorb W(A/W)
檢出器 : FID
溫度 : column 225°, detector 240°
Carrier gas: N₂, 60ml / min
Sample Solvent: acetone

Extraction and Separation of Sterols



III. 實驗結果

(Table. Composition of sterols in crude drugs

Crude Drug \ Sterol	Cholesterol	Campesterol	Stigmasterol	β-Sitosterol	Other Peaks
夏 枯 草	-	±	-	+(40)	(60)
紫 草 根	+(15)	+(20)	+(5)	+(60)	
枸 杞 子	+(25)	-	+(10)	+(50)	(15)
蓮 実	+(10)	+(10)	-	+(80)	

* ()内的 數는 Sterol의 組成比

表中에서 나타난 바와 같이 夏枯草에 있어서 β -sitosterol의 retention volume이 顯著하게 큰데 反하여 campesterol의 sensitivity가 너무 낮아서 確認하기가 어려웠으며 amyrin으로 推定되는 peak가 크게 나타났다.

紫草는 cholesterol, campesterol, stigmasterol, β -sitosterol을 모두 含有하고 있었으나 역시 β -sitosterol의 含量이 제일 많았고, 枸杞子의 cholesterol含量은 4種生藥中에서 제일 많아 特異하였다. 그의 stigmasterol과 相當량의 β -sitosterol을 含有하였다. 여기서도 他 peak가 나타났는데 amyrin으로 추정된다.

蓮實에서도 cholesterol, campesterol 이 檢出되었으나 β -sitosterol의 retention volume이 特히 컸다.

IV. 考察 및 結論

本實驗에 앞서 Alcohol性 KOH 不鹼化合物에 對하여 Liebermann-Buchard反應을 施行하였던바 陽性이었으므로 R. Ikan等의 T. L. C에 의한 分離確認을 試圖해보았으나 分離가 困難하였다. 卽 性状의 類似性때문에 Rf 値가 너무 近接하여 實際로 分離確認이 不可能하였다. 그러나 Copius-Peereboom에 의하면 undecane으로 浸漬시킨 Silica Gel G를 써서 acetic acid-acetonitrile(1+3)으로 展開시키면 어느程度 分離가 可能하다고 하였으나 實驗해 보지 못하였다.

Glenn W. Patterson은 4種의 column充填劑 (3% SE-30, 1% QF-1, 3% Hi-Eff 8 BP, 2% PMPE)를 써서 92種의 Sterol에 對하여 cholesterol에 對한 各의 R. R. T. 를 調査하였다. 이 結果에 依하면 첫째 4種의 column을 使用함으로써 거의 大部分의 Sterol을 分離確認할수 있으며 둘째 cholesterol에 對한 其他 sterol의 R. R. T. 는 cholesterol acetate에 對한 其他 sterol acetate의 R. R. T. 가 一致함을 알수 있고 셋째 가장 一般의인 C-28이나 C-29 Sterol에 對한 分離能은 SE-30 Column이 제일 좋으므로 cholesterol, Campesterol, Stigmasterol, β -sitosterol의 分離確認은 SE-30 單--Column으로도 거의 可能하다고 하였다.

從前에는 所謂 γ -sitosterol이란 單--物質로 알려졌던 物質에 對하여 Nishioka等이 여러가지로 再實驗해본 結果 campesterol과 β -sitosterol의 各 組成比에 의한 混合物이었음이 밝혀졌다. 融點, 比旋光度,

赤外吸收 spectrum으로도 밝혀지지 않았던 γ -sitosterol의 本體가 G. C. 로 밝혀진것은 gas chromatography의 뛰어난 長点이라 할수 있는데 本 實驗에서도 campesterol과 β -sitosterol은 역시 잘 分離되었다.

前記 4種의 生藥에 對하여 sterol의 分布狀態를 調査해본 結果

(1) β -sitosterol은 4種의 生藥에서 모두 檢出되었으며 그含量도 4種의 sterol中 가장 많았다.

(2) cholesterol은 紫草根, 枸杞子 및 蓮實에서 檢出되었는데 枸杞子에서의 含量비가 가장 많았다.

(3) campesterol은 紫草根 및 蓮實에서, stigmasterol은 紫草根 및 枸杞子에서 檢出되었으나 그 組成比는 比較的 낮았다.

(4) 夏枯草 및 枸杞子에서 amyrin으로 推定되는 peak가 나타났다.

REFERENCES

1. R. J. Anderson, et al, J. Am. Chem. Soc, 48, 2976, (1926)
2. L. F. Fieser, M. Fieser, Steroids, 351 (1959)
3. Tsukamoto, et al, 日本藥學雜誌, 78, 1099 (1958)
4. Nishioka, ibid, 78, 1432 (1958)
5. R. Ikan, et al, J. Chromatography, 14, 504, 1964.
6. Nishioka, et al, Chem, Pharm, Bull, 13, 379, 1965
7. T. Kariyone, Y. Hashimoto, 日本藥學雜誌 69, 313, 1949,
8. Glenn W. Patterson, Anal. Chem, 43, 1165, 1971,
9. R. Ikan, et al, J. chromatog. 18, 488, (1965)
10. J. W. Copius-Peereboom, J. Gas Chromatog. 3, 325, 1965,
11. Ikekawa, et al, Anal, Chem, 40, 1139, 1968
12. Tsuda, et al Chem. Pharm Bull, 9, 835, 1961
13. Tsukamoto, et al, ibid, 16, 2123, 1968.