

商陸成分에 관한 研究(I)

抗炎症性 Saponin에 對하여

禹 源 植 · 申 國 鉉 · 姜 三 植

서울대학교 生藥研究所

Constituents of *Phytolacca* Species (I)

Anti-inflammatory Saponins

Won Sick Woo, Kuk Hyun SHIN and Sam Sik KANG

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea

Ten saponins named phytolaccoside A~I and O were separated and shown to contain only D-glucose as sugar except phytolaccoside A which contains only D-xylose. Phytolaccagenic acid was found to be a genin for phytolaccosides A and D, phytolaccagenin for B, E and F, jaligonic acid for G, and esculentic acid for C, H, I and O, respectively. The total saponin fraction exhibited strong anti-inflammatory activity.

서 론

商陸은本草綱目 草部에 收載되어 있으며 別名 山蘿葡, 莧陸, 章柳根, 白昌, 馬尾, 夜呼, 山鹿脯, 當陸 등으로 불리우는 生藥으로써 漢方에서는 消腫의 目的으로 使用되고 있으며¹⁻³⁾ 民間에서는 神經痛치료 및 利尿劑로 使用하고 있다.

韓國에 自生하고 있는 商陸으로써는 자리공 *Phytolacca esculenta*, 섬자리공 *P. insularis* 및 양자리공 *P. americana*의 3種類가 있으나⁴⁾ 양자리공이 各地에

널리 分布되어 있는 關係로 民間에서는 주로 양자리공을 藥材로 使用하고 있다.

著者들은 商陸의 藥效成分을 究明할 目的으로 양자리공의 뿌리를 對象으로 抗炎症性物質을 檢索한 結果 물에 難溶인 saponin fraction이 강한 消炎作用을 나타내었으며 (Table I), 이 saponin fraction은 TLC上에서 10個의 成分으로 分離되었다. 著者들은 이 商陸 saponin을 phytolaccoside라고 命名하고 各各 saponin에 對하여 그것을 構成하고 있는 genin 및 糖을 確認하였기에

Table I. Effect of Crude Saponin on Carrageenin-induced Paw Edema in Rats.

Pretreatment	Dose (mg/kg) i.p.	Edema (ml)	Inhibition (%)	ED ₅₀ (mg/kg)
Control (saline)	—	0.68±0.07	—	
Crude saponin	5	0.47±0.04	30.9*	
Crude saponin	15	0.35±0.04	48.5**	
Crude saponin	30	0.25±0.05	63.2**	15.1
Control (saline)	—	0.65±0.07	—	
Cortisone acetate	15	0.56±0.06	13.8	
Cortisone acetate	30	0.34±0.06	47.7**	

* P<0.05, ** P<0.01

그 결과를 보고한다.

실험 방법

粗 saponin의分離—本研究所 藥用植物園에서 栽培한 양자리공의 根을 細切한 후 風乾하고 MeOH로 4回 溫浸한 후 농축하여 H₂O를 加해 析出하는 침전을 濾過하였다. 濾液의 色이 더 以上 나오지 않을 때까지 이 操作을 반복한후 ether로 抽出하여 粗 saponin을 얻었다. 이 製品에는 若干의 遊離糖이 섞여져 있었으며 灰分 定量한 結果 6.2%였다.

粗 saponin의 分劃—위에서 얻은 粗 saponin을 silica gel column에 걸어 CHCl₃-MeOH-H₂O=65 : 35 : 10의 溶媒로 elution하여 Table III과 같은 各 區分을 얻었다.

各 區分의 酸加水分解—上記에서 얻은 各 區分의 sample 50mg을 MeOH 10ml에 溶解시킨 후 c-HCl 1.6 ml를 加해 5% HCl·MeOH溶液으로 한 후 수욕상에서 3時間 reflux시킨 다음 溶液의 1/2를 감압농축한 후 H₂O를 加해 析出하는 침전을 濾過하고 濾液은 NaHCO₃로 中和시킨다음 농축하였다. 침전은 MeOH로 溶解시켜 MeOH-CHCl₃-7% HAc=1 : 5 : 1溶媒를 使用하여 TLC를 실시하여 genin을 確認하였으며 농축한 濾液은 MeOH-CHCl₃-Acetone-NH₄OH=5 : 2 : 3 : 2溶媒 및 MeOH-CHCl₃-NH₄OH-H₂O=30 : 60 : 3 : 4溶媒를 使用하여 糖을 確認하였다.

各 區分의 alkali處理—各 區分의 sample 10mg을 3% NaOH·MeOH溶液 10ml에 溶解시켜 수욕상에서 5時間 reflux한 후 농축하고 HCl로 中和시킨다음 BuOH로 抽出하고 BuOH層을 H₂O로 세척한 후 농축하여 MeOH-CHCl₃-NH₄OH-H₂O=30 : 60 : 3 : 4溶媒를 使用하여 TLC를 실시하였다.

各 區分의 methylation—各 區分의 sample 5mg을 MeOH 5ml에 溶解시킨다음 ether性 CH₂N₂溶液을 加하고 1夜 放置시킨 후 농축하여 MeOH-CHCl₃-NH₄OH-H₂O=30 : 60 : 3 : 4를 展開溶媒로 하여 TLC를 실시하였다.

消炎作用—體重 130~150g의 albino rat를 實驗動物로 하고 WINTER等의 方法에 依하여 消炎效果를 究明하였다⁶⁾. Rat의 後肢足蹠의 皮下에 起炎劑로써 carrageenin(seaken 202)의 1%生理食鹽液 0.1ml를 注射하였다. 粗 saponin은 生理食鹽液의 懸液액으로 하여 起炎劑注射 30分前에 rat의 腹腔內에 注射하였다. 對照群은 生理食鹽液만을 投與하였다.

足의 容量은 HARRIS & SPENCER's method에 依하여 carrageenin注射 直前및 投與後 3時間에 測定하였다⁶⁾. 浮腫의 增加는 起炎劑 注射前의 足의 容量과 投與後의 足의 容量과의 差로부터 求하고 浮腫抑制率은 對照群의 浮腫增加率과 藥物投與群의 浮腫增加率과의 差에 對한 對照群과의 比로써 나타내었다.

急性毒性—體重 17~23g의 albino mouse와 150~200g의 albino rat를 實驗動物로 하였다. mouse 1群을 8匹로 하고 各 5群에 對하여 粗 saponin의 變量(160~200mg/kg)을 腹腔內 投與하였다. 藥物投與後 4~5時間까지 死亡한 動物數를 測定하여 그 LD₅₀을 LITCHFIELD-WILCOXON method에 依하여 求하였다⁷⁾. Rat에 對한 LD₅₀은 Up and Down method에 依하여 求하였다.

결과 및 고찰

商陸의 藥効成分을 究明할 目的으로 動物實驗을 併行하면서 抗炎症性物質을 檢索한 結果 물에 難溶性인 saponin fraction이 강한 消炎作用을 나타내었다. Table I에 表示한바와 같이 粗 saponin의 腹腔內 1回投與에 依해 顯저한 浮腫抑制效果를 나타내며 그 50%抑制率(ED₅₀)은 15.1mg/kg이었다. 이것은 同一量의 cortisone acetate抑制率을 증가하는 抑制效果였다. 또한 非經口 投與時 刺激劑(irritant)가 나타내는 腹腔內滲出液의 貯溜現象이 粗 saponin에는 없었다(데이터 未提示). 한편 粗 saponin의 急性中毒을 測定한 結果 Table II에 表示한 바와 같이 mouse에 對한 LD₅₀은 181mg/kg(72時間)이며 rat에 對한 LD₅₀은 208mg/kg이었다. 致死量의 投與에 依하여 實驗動物은 最初 數分間 極度의 흥분作用을 나타내어 暴走 또는 도약을 나타내며 점차 運動失調

Table II. Acute Toxicity of Crude Saponin.

Compounds	Species	Route	LD ₅₀ (mg/kg)
Crude Saponin	Mouse	i.p.	181(175.7-186.4) ^{a)}
Crude Saponin	Rat	i.p.	208 ^{b)}

a) LITCHFIELD-WILCOXON method. Numbers in parenthesis indicate the 95% confidential limits.

b) Up and down method. The animals were observed for 72 hrs. after dosing.

에 들어가서 死亡하였다. 動物에 따라서는 尿排泄의 증가와 설사를 하는 경우도 있었다.

이 saponin fraction은 이미 禹에 의하여 여러 混合物임을 暗示하였으며 酸加水分解에 의하여 4種의 genin을 分離 各各 phytolaccagenin, jaligonic acid, phytolaccagenic acid 및 esculentic acid임을 發表한 바 있다^{8,9)}. 이 saponin fraction은 TLC(展開劑, MeOH-CHCl₃-NH₄OH-H₂O=30:60:3:4)에서 10種으로 分離된다¹⁰⁾. 著者들은 各成分을 極성이 커지는 順序로 phytolaccoside A~I 및 O(原點에 남아 있는것)라고 區別하였다. 이 phytolaccoside群을 column chromatography에 의하

여 主成分인 phytolaccoside B, C₈₇H₈₈O₄, mp 215~218°, $[\alpha]_{25}^D = +75.8^{+11}$ 및 E, C₄₃H₆₈O₁₇, mp 226~229°, $[\alpha]_{16}^D = +56.2^{+12}$ 를 單一物質로 分離하는데 成功하였으나 다른 物質은 그 量이 적으며 Rf值의 差가 근소하므로 現在까지 完全 單離하지 못하였다. B成分과 E成分은 phytolaccagenin에 glucose가 各各 1 mole 및 2 mole 結合되어 있으며 이들의 構造에 對해서는 次後 發表하겠다.

各 區分中 두 成分만이 들어있는 區分에 對하여 構成되어 있는 genin 과 糖을 조사한 結果는 Table III과 같다. 即 A,B成分混合物은 genin으로써 phytolaccagenic acid

Table III. Hydrolysis Products of Chromatographic Fractions.

Fraction	Saponin components contained	Product*	
		Genin	Sugar
1	A+B	EM+JM	X+G
2	B	JM	G
3	B+C	E + JM	G
4	C+D	E + EM	G
5	D+E	EM+JM	G
6	E	JM	G
7	E+F	JM	G
8	F+G	J + JM	G
9	H+I	E	G
10	O	E	G

*EM; phytolaccagenic acid, JM; phytolaccagenin, E; esculentic acid, J; jaligonic acid, X; xylose, G; glucose.

및 phytolaccagenin이 檢出되었으며 糖으로써 glucose 및 xylose가 檢出되었다. A成分의 Rf值가 가장 크며 또한 純粹한 B成分은 phytolaccagenin과 glucose 1 mole로 構成되어 있으므로 A成分은 phytolaccagenic acid와 xylose 1 mole로 構成되어 있으리라고 推定된다. 다른 區分에서는 糖으로써 glucose만을 檢出하였다. 따라서 A成分 以外の 모든 saponin의 構成糖은 오로지 glucose 뿐임을 알 수 있다. B,C成分混合物에서는 genin으로써 phytolaccagenin, esculentic acid가 檢出되었으므로 C成分은 esculentic acid와 glucose로 構成되어 있을것으로 推定되며, C,D成分混合物에서는 esculentic acid 및 phytolaccagenic acid가 檢出되었으므로 D成分은 phytolaccagenic acid와 glucose로 되어 있음이 分明하다. 이것은 D,E成分 混合物에서 phytolaccagenic acid 및 phytolaccagenin이 檢出되었으며 E成分의 genin이 phytolaccagenin이라는 事實로도 確實視된다. E成分은 2 mole의 glucose가 있으므로 D成分의 Rf值를 감안하여 보면

D成分의 糖部도 glucose가 2 mole 들어 있는 것으로 推定된다. C成分의 genin은 2個의 遊離酸基가 있는데도 不拘하고 C成分의 Rf值가 큰것으로 미루워보아 1 mole의 glucose가 ester結合을 하고 있는것 같다. E,F成分 混合物에서는 單지 phytolaccagenin만이 檢出되므로 F成分은 phytolaccagenin과 2 mole의 glucose로 構成되었으며 E成分하고는 結合樣式만 다른 異性體든가 또는 糖이 3mole로 된 saponin인것 같다. F,G成分混合物에서는 phytolaccagenin과 jaligonic acid가 檢出되므로 G成分은 jaligonic acid와 glucose로 構成되었다. B成分은 alkali分解하면 TLC上에서 G成分과 同一한 것으로 되며 methylated B와 methylated G가 TLC上에서 같으므로 B成分은 G成分의 monomethylester라고 推定된다. H,I成分混合物에서는 esculentic acid만이 檢出되므로 H成分 및 I成分은 共히 esculentic acid와 glucose로 構成되어 있음을 알았다. D成分을 alkali分解하면 TLC上에서 H成分과 같아지며 methylated D成分과 methylated

H成分이 TLC에서 같으므로 D成分은 H成分의 monomethylester일 것이다. I成分은 Rf값으로 미루워보아 糖으로써 glucose가 2 또는 3 mole이라고 推定되며 O成分은 genin으로써 esculentic acid만이 檢出되었으므로

esculentic acid와 glucose로된 saponin이며 糖은 적어도 3 mole以上일 可能性이 크다. 以上을 綜合하여 보면 各成分의 構成은 Table IV와 같다.

*P. americana*의 saponin에 對해서는 이미 1949年

Table IV. Proposed Composition of Phytolaccosides.

Saponin	Genin	Sugars (No.)
A	Phytolaccagenic acid	xylose (1)
B	Phytolaccagenin	glucose (1)
C	Esculentic acid	glucose (1)
D	Phytolaccagenic acid	glucose (2)
E	Phytolaccagenin	glucose (2)
F	Phytolaccagenin	glucose (2 or 3)
G	Jaligonic acid	glucose (1)
H	Esculentic acid	glucose (2)
I	Esculentic acid	glucose (2 or 3)
O	Esculentic acid	glucose (more than 3)

AHMED等이 根에서 한 成分을 結晶으로 分離하여 $C_{55}H_{90}O_{22} \cdot 2H_2O$ 의 分子式을 提出하였으되¹³⁾, 그후 STOUT等에 依하여 이 物質의 genin은 phytolaccagenin이며 糖은 glucose 및 xylose임을 發表하고 이 saponin을 phytolaccatoxin이라고 命名하였다¹⁴⁾. 그러나 그들의 phytolaccatoxin은 그들이 提出한 分子式으로 미루워보아 單一物質이 아니거나 單一物質이라던 分子式이 틀리거나 둘 중에 하나다. 著者가 撰한 saponin의 分離法은 그들의 그것과 같다. 따라서 phytolaccatoxin은 여러 phytolaccoside의 混合物이라고 思料된다.

결 론

商陸根의 粗 saponin은 強한 浮腫抑制作用이 있으며 商陸의 藥效成分이라고 思料된다. 이 粗 saponin은 10個의 saponin의 混合物이며 phytolaccoside A, D成分의 genin은 phytolaccagenic acid, B, E, F成分의 genin은 phytolaccagenin, G成分의 genin은 jaligonic acid, C, H, I, O成分의 genin은 esculentic acid이다. 糖은 A成分(xylose)을 除外하고는 全部 glucose뿐이다.

本 研究의 一部는 産業協同財團에서 支給된 學術研究費에 依하여 이루어졌다.

<1976. 2. 2 접수>

문 헌

1. 李時珍: 本草綱目 草部 第十七卷上 草之六, 金陵本 (1596).

2. 許 浚: 東醫寶鑑 湯液篇 卷之參(1613).
3. 世宗朝命選: 鄉藥集成方, 草部, 下品之下卷 七九 (1433).
4. 池亨浚, 禹源植, 姜三植, 梁基淑: 生藥學會誌, 5, 134 (1974).
5. WINTER, C.A., RISLEY, E.A., and NUSS, G.W.: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 141, 369 (1963).
6. HARRIS, J.M. and SPENCER, P.S.: *J. Pharm. Pharmacol.*, 14, 464 (1962).
7. LITCHFIELD, J.T. and WILCOXON, Jr. F.: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 96, 99 (1949).
8. Woo, W.S.: *Phytochemistry*, 13, 2887 (1974); 14, 1885 (1975).
9. Woo, W.S. and KANG, S.S.: *Kor. J. Pharmacog.*, 5, 69, 125 (1974); *J. Pharm. Soc. Korea*, 18, 231 (1974); 19, 189 (1975).
10. 禹源植, 池亨浚, 姜三植: 生藥學會誌, 7, 15 (1976).
11. 禹源植, 姜三植: 韓國生化學會 第10回 學術大會 發表, 1975, p. 7.
12. 禹源植, 姜三植: 韓國生藥學會 第6回 學術大會 發表, 1975, p. 10.
13. AHMED, Z.F., ZUFALL, C.J., and JENKINS, G. L.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, 38, 443 (1949).
14. STOUT, G.H., MALOFSKY, B.M., and STOUT, V.F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 957 (1963).