

吳茱萸 *Evodiae Fructus* 芳香性物質의 藥理學的 研究

慶熙大學校 醫科大學 藥理學教室

盧永根 · 鄭址昌 · 高啓昌 · 韓大燮

= Abstracts =

Pharmacologic Action of Essential Substance Obtained from Fruits of *Evodia rutaecarpa*

Young Geun Rho, Jee Chang Jung, Kye Chang Ko and Dae Sup Han

Department of Pharmacology, School of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

The Pharmacologic action of ethanol extracts and essential substance obtained from fruits of *Evodia rutaecarpa* are studied.

- 1) Motility of the isolated rabbit-intestine was decreased in proportion to the concentration of essential substance.
- 2) Intestinal contraction induced by acetylcholine 10^{-6} g/ml was inhibited by the essential substance 10^{-5} g/ml.
- 3) Contractile responses of the isolated rabbit-intestine by serotonin 10^{-5} g/ml and histamine 10^{-5} g/ml were depressed significantly with the essential substance 10^{-5} g/ml.
- 4) Alpha adrenergic receptor blocking effect of dihydroergotamine was interfered significantly with the essential substance.
- 5) Analgesic effect in mice by acetic acid stimulating method was observed significantly with both of the ethanol extracts and essential substance.
- 6) Blood pressure and respiration of the rabbits were not significantly influenced with the essential substance.

緒 論

吳茱萸(*Evodiae Fructus*)는 薔香科(Rutaceae)에 屬하는 落葉小喬木으로서 中國原産이나 우리나라를 비롯하여 東洋各地에 栽培하고 있다. 吳茱萸는 오수유나무(*Evodia rutaecarpa* Bentham)의 成熟한 果實로서 採集後 1年後에 藥用으로 使用하며 健胃, 鎮嘔, 鎮痛, 止瀉 및 利尿作用이 있어 漢方에서 嘔吐, 頭痛, 腹痛, 消化不良 및 止瀉劑등으로 應用되고 있다.^{1,2,3)}

吳茱萸의 成分研究로는 慶松⁴⁾은 精油로서 evodin 과 alkaloid인 evodiamine 과 rutaecarpine 을 分離하였고 朝比奈⁵⁾는 吳茱萸의 精油에서 evodine 을, 山崎⁶⁾는 rhetsinin 을, 廣瀬⁷⁾는 evodin 을 각각 分離한바 있다.

藥理作用에 관한 研究로 清水⁸⁾와 根本⁹⁾는 evodiamine 의 分解產物인 β -indolethylamine 이 鎮痛促進作

用, 中樞興奮作用과 止血作用을 나타냄을 관찰한바 있으며 山田¹⁰⁾는 吳茱萸 alcohol 믹스의 鎮痛作用, 家兔 體溫上昇作用과 血流促進作用을 究明한 바 있다.

著者등은 吳茱萸의 活性物質의 分離시도와 이 物質에 對한 藥理作用을 究明할 目的으로 本實驗에 着手하였고, 一次로 吳茱萸로부터 ethanol 엑스와 水蒸氣증류에 의하여 芳香性物質을 分離하였고 이 物質이 止瀉作用과 鎮痛效果에 미치는 影響과의 關連을 追求 하고자 家兔摘出腸管運動에 對한 作用과 鎮痛作用을 檢討한바 의의있는 實驗結果를 얻었기에 보고하는 바이다.

實 驗 部

1) 實驗材料

實驗材料로는 市中에서 購入한, 吳茱萸 5.0 kg 을

ethyl alcohol 로 3回抽出하여 얻은 ethanol extracts 1.7 kg 과 따로 吳茱萸 1.0 kg 을 水蒸氣증류하여 얻은 芳香性物質 1.4 g 을 實驗에 使用하였다.

2) 實驗動物 및 試藥

實驗에 使用한 動物로는 小鼠(體重 20~25 g)와 家

兔(體重 1.8~2.2 kg)를 一定한 飼料로 2週間 飼育하여 實驗室環境에 적응하도록 한 다음 實驗에 使用하였다.

實驗에 使用된 試藥은 acetylcholine bromide (Wako, Ep), histamine diphosphate(sigma, Ep), serotonin creatinine sulfate(Kanto) 및 dihydroergotamine tartrate(Sigma) 등 이었다.

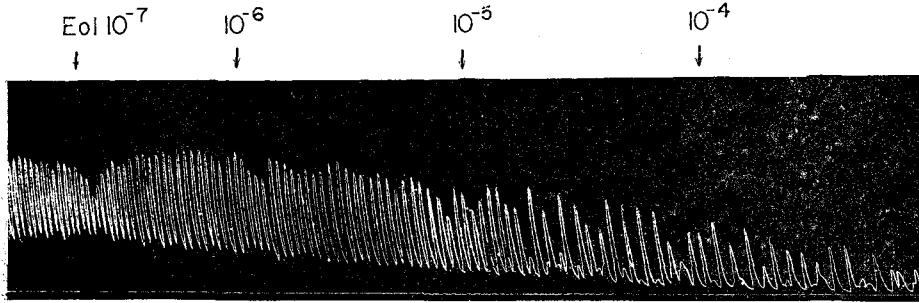


Fig. 1. Dose response of essential substance(Eol) obtained from *Evodiae Fructus* on motility isolated rabbit duodenum. Eol 10^{-7} : Essential substance 10^{-7} g/ml, 10^{-6} : 10^{-6} g/ml, 10^{-5} : 10^{-5} g/ml, 10^{-4} : 10^{-4} g/ml

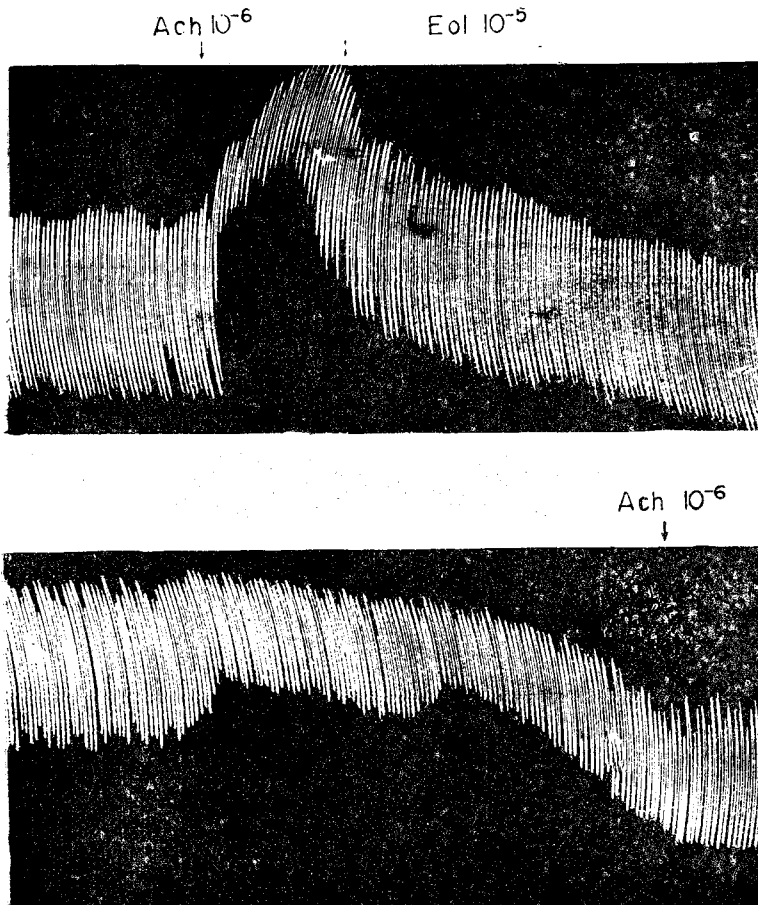


Fig. 2. Effect of Eol and acetylcholine(Ach) on motility of rabbit duodenum.

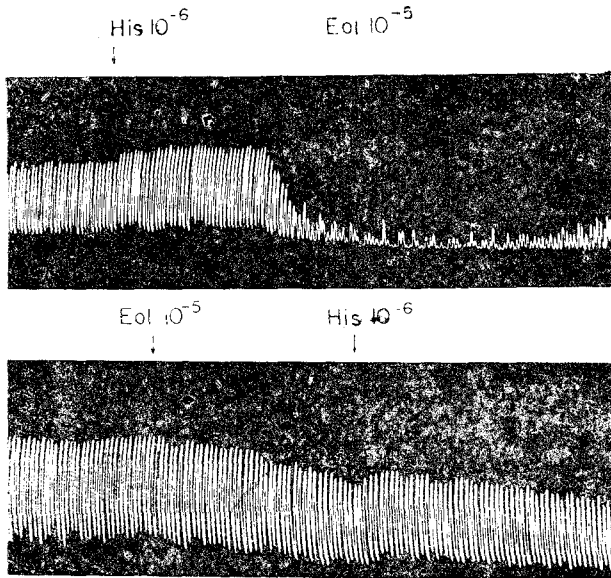


Fig. 3. Effect of Eol and histamine(His) on motility of rabbit duodenum.

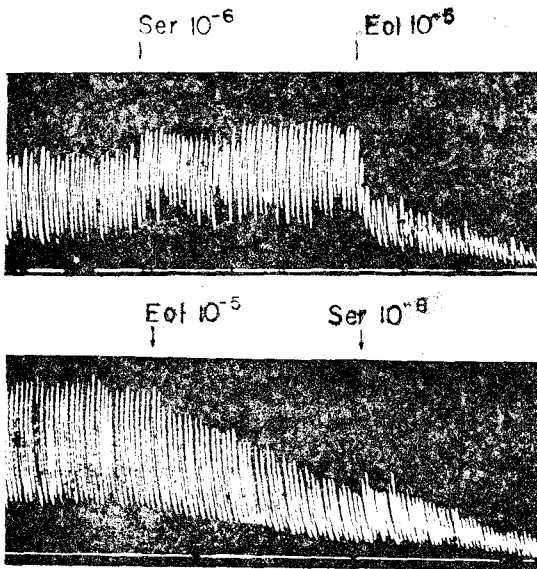


Fig. 4. Effect of Eol and serotonin(Ser) on motility of rabbit duodenum.

3) 實驗方法

(1) 家兔摘出腸管에 對한 作用: 家兔를 失血致死시키 즉시 十二指腸을 摘出하여 Magnus method에 따라 摘出腸管의 運動을 관찰하였다¹¹⁾.

吳茱萸를 水蒸氣증류하여 얻은 芳香性物質(Eol)을 牛乳로 emulsify 하여 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} 및 10^{-4} g/ml의

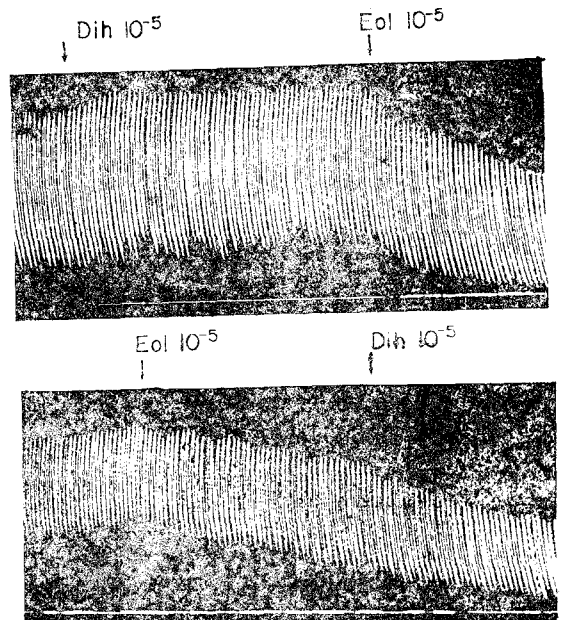


Fig. 5. Effect of Eol and dihydroergotamine(Dih) on motility of rabbit duodenum.

濃度로 摘出腸管의 正常運動에 대한 影響을 觀察하여 用量에 따른 反應을 檢討하였고, 이어 反應이 현저하게 나타나기 시작하는 10^{-5} g/ml의 濃度에서의 作用을

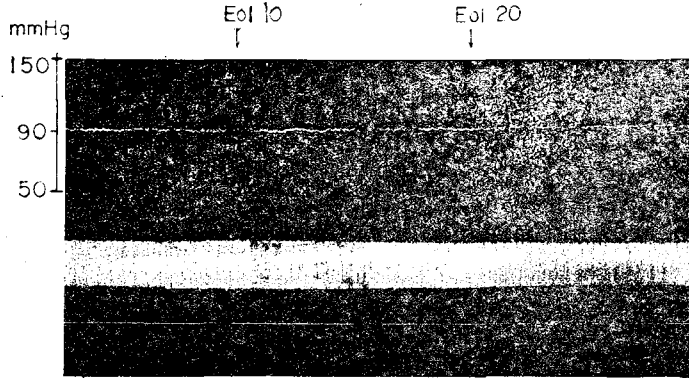


Fig. 6. Effect of Eol(10,20mg/kg, i.v.) on blood pressure and respiration in anesthetized rabbits.

여러 末梢作用藥物과의 相互作用을 比較觀察하였다.

對照藥物로는 acetylcholine 10^{-6} g/ml, serotonin 10^{-6} g/ml, histamine 10^{-5} g/ml 와 dihydroergotamine 10^{-5} g/ml 등의 약물로 Eol의 摘出腸管運動에 미치는 影響의 作用機轉을 追求하였다.

(2) 血壓 및 呼吸에 對한 作用 : 家兔에 urethane 1.0 g/kg 을 耳靜脈으로 投與하여 麻醉시킨후 常法에 따라 頸動脈에 水銀 manometer 에 연결한 cannula 를 삽입 結찰하고 氣管에는 呼吸 tambour 에 연결한 cannula 를 삽입하여 혈압과 호흡곡선이 一定하게 되었을 때 檢液으로 Eol 을 耳靜脈을 通하여 注入하여 血壓과 呼吸을 觀察하였다¹²⁾.

(3) 鎮痛作用 : 實驗動物을 ethanol extracts(EtHex), Eol 投與群과 sulpyrine 投與群 및 對照群으로 區分하여 每群當 마우스 10마리씩에 EtHex(500 mg/kg), Eol (100 mg/kg), sulpyrine(100 mg/kg)과 對照群에는 生理食鹽水를 각각 皮下注射하고 30분후에 0.7% acetic acid 0.1 ml/10g 을 腹腔內注射한 후 10分後 10分間의 writhing symptom 의 頻度を 조사하여 各群의 실험 成績을 比較 관찰 하였다^{13,14,15)}.

(4) 芳香性物質의 分離定量 및 GLC : 精油定量裝置¹⁶⁾를 사용하여 吳茱萸 1.0 kg 으로부터 1.4 g 의 芳香性 物質을 分離하였고, 本物質의 gas liquid chromatography (GLC)를 시행하여 GLC 相을 檢討하였다.

(5) 統計的處理 : 本實驗에서의 실험결과를 student T-test 를 시행하여 유의성을 檢定하였다.

實驗結果

1) Eol 이 家兔摘出腸管運動에 미치는 影響

(1) 投與用量에 따른 腸管運動의 變化 : Eol 10^{-7} g/ml 의 濃度에서는 摘出腸管運動의 變化가 없었고 10^{-6}

g/ml에서 약간의 弛緩作用을 10^{-5} g/ml에서는 현저한 이완작용과 motility 의 감소를 보였으며 10^{-4} g/ml 농도에서는 더욱 현저한 이완작용과 蠕動운동의 抑制效果를 나타내었다(Fig. 1.).

(2) Eol 과 末梢作用藥物과의 相互作用 : 1) Acetylcholine: Acetylcholine 10^{-6} g/ml 에 의하여 수축된 積출장관은 Eol 10^{-5} g/ml 로 현저한 抑制效果가 나타났으며 Eol 10^{-5} g/ml 로 이완된 摘出腸管運動은 acetylcholine 10^{-6} g/ml 투여로도 수축반응이 나타나지 않고 이완효과가 지속되었다(Fig. 2).

2) Histamine: Histamine 10^{-5} g/ml 에서 수축반응을 나타낸 積출장관은 Eol 10^{-5} g/ml 투여로 弛緩作用과 motility 의 현저한 抑制作用을 관찰할 수 있었고, Eol 前處置後 histamine 투여로는 histamine 의 수축반응이 나타나지 않았다(Fig. 3).

3) Serotonin: Serotonin 10^{-6} g/ml 에서 家兔의 摘出腸管은 收縮作用을 나타내었고 Eol 10^{-5} g/ml 투여로 弛緩作用과 收縮力의 減소를 관찰할 수 있었고 Eol 10^{-5} g/ml 투여후의 serotonin 10^{-5} g/ml 은 수축반응을 나타내지 않았다(Fig. 4).

4) Dihydroergotamine: Dihydroergotamine 10^{-6} g/ml 와 Eol 10^{-5} g/ml 사이에서는 가토積출장관운동에 對하여 서로 拮抗作用을 나타내었다(Fig. 5).

2) 血壓 및 呼吸에 對한 效果

Eol 10 mg/kg 과 20 mg/kg 투여로 家兔의 頸動脈血壓은 아무런 影響이 없었으며 呼吸에도 별다른 影響을 관찰할 수 없었다(Fig. 6).

3) 鎮痛效果

Table 1에 提示한 바와 같이 Eol 투여군은 writhing symptom 의 頻도가 17.2 ± 8.4 회로서 대조군 $42.5 \pm$

—Y.G. Rho, et al: Pharmacologic-Action of Essential Substance Obtained from
Fruits of *Evodia rutaecarpa*—

Table 1. Analgesic effect of essential substance and ethanol extracts obtained from *Evodiae Fructus* in writhing symptoms in mice

Drugs	Writhing symptom frequency	Analgesic effect(%)	P
Saline	42.5±5.7 ^a (10)	—	—
Eol(100 mg/kg, s.c.)	17.2±8.4 (10)	59.5	<0.05
EtHex(500 mg/kg, s.c.)	10.1±7.6 (10)	76.2	<0.01
Sulpyrine(100 mg/kg, s.c.)	7.7±2.9 (10)	81.9	<0.001

a: Mean±S.E.

Parenthesis indicate the number of animals.

P value: compared with saline treated group.

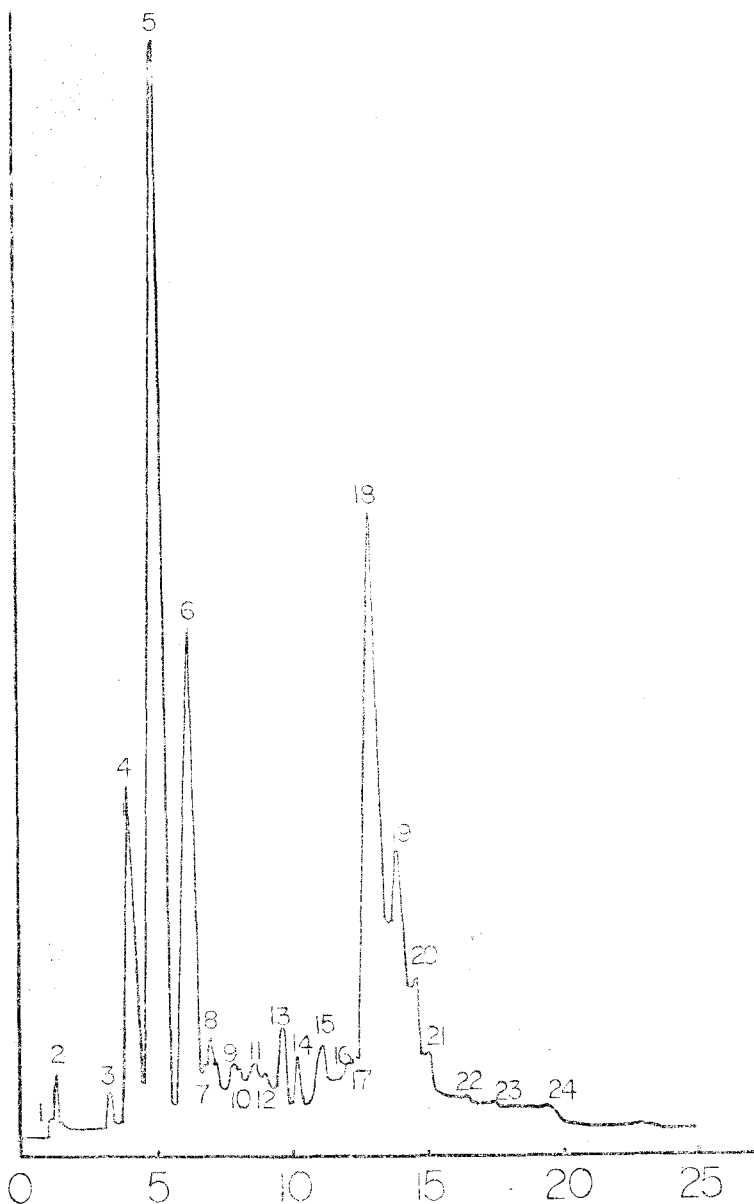


Fig. 7. GLC of essential substance in fruits of *Evodia rutaecarpa*.
Column: 5%DV-17, Temperatures: Column 100→300°C, Detector 350°C, Inlet 330°C, Carrier
gas; N₂(40 ml/min) Detector gas; He 40 ml/min, Air 200 ml/min, He 40 ml/min. Chart speed:
0.2 inch/min., Sample volume: 1.6×10⁻⁸

5.7회에 比하여 현저한 抑制效果를 나타내었고 EtHex 투여군은 10.1±7.6회로서 鎮痛作用 對照藥物로 sulpyrine을 투여한群의 7.7±2.9회와 類似한 反應을 나타내었다.

4) Eol의 分離定量 및 GLC相

吳茱萸의 芳香性物質(Eol)을 大韓藥典規定에 의하여 分離定量한바 0.14%의 含量을 나타내었으며 Eol에 對한 GLC相은 Fig. 7과 같다.

考 察

吳茱萸 *Evodiae Fructus*는 漢方에서 止瀉, 芳香性健胃 및 鎮痛藥으로 應用되는 生藥임은 이미 緒論에서 言及한 바 있으며 本生藥의 止瀉作用과 鎮痛效果를 究明하고자 우선 家兔摘出腸管運動에 對한 豫備實驗을 通하여 吳茱萸의 ethanol 엑스(EtHex)가 家兔의 摘出腸管運動에 對한 吳茱萸의 活性物質과 機轉의 追求를 爲하여 芳香性物質을 分離하여 摘出腸管運動에 미치는 影響을 檢討하였다.

吳茱萸芳香性物質(Eol)은 10⁻⁵g/ml 농도에서 현저한 家兔摘出腸管의 弛緩作用과 收縮力의 減少를 나타내었다.

腸管平滑筋에 對한 acetylcholine의 平滑筋收縮效果는 Eol에 의하여 抑制됨을 觀察할 수 있어 Eol은 腸管平滑筋에 介在하는 cholinergic 신경지배중 acetylcholine의 muscarinic effect에 대하여 서로 拮抗적으로 作用하는 것으로 생각된다^{7,18)}.

Histamine과 serotonin은 平滑筋에 對한 收縮作用을 나타내는 物質로 알려져 있으며 이들은 平滑筋에 對한 직접작용과 적출장관의 어떤 neuronal elements의 亢進效果도 일부 關여하여 수축작용을 일으키는 것으로 보여지고 있어^{19,20)}, Eol과의 拮抗作用은 직접작용인지 아니면 間接작용인지는 不明하나 일단 이들물질과의 antagonist로 작용하는 것으로 추정된다.

Dihydroergotamine은 adrenergic blockade와 平滑筋에 대한 직접작용으로 적출장관의 수축반응을 보이는 것으로 여겨지며²¹⁾ Eol은 dihydroergotamine과도 拮抗적으로 作用함을 觀察할 수 있었다.

Acetylcholine, histamine, serotonin 및 dihydroergotamine 등과 Eol사이에서는 모두 拮抗적으로 作用하는 점으로 미루어 보아 吳茱萸의 Eol이 나타내는 腸管運動抑制와 腸管平滑筋 弛緩作用은 平滑筋에 對한 직접작용에 의한 것인지 또는 平滑筋에 內在하는 neuronal factor에 關여하여 이루어지는 것인지는 미상이

나 Eol과 이들 물질간에 拮抗적으로 작용하므로써 이루어지는 것으로 생각된다.

한편 Acetic acid stimulating method에 의한 鎮痛效果實驗에서 Eol과 EtHex는 59.5%와 76.2%의 진통효과를 나타내므로써 진통작용 對照藥物로 사용한 sulpyrine 100 mg/kg의 진통효과 81.9%에는 미치지 못하나 緩和한 진통작용이 認定되고 있다.

Eol의 GLC相에 있어서 모두 24個의 peak를 나타내는 점으로 미루어 보아 Eol은 24종류 以上の 成分으로 構成되어 있음을 추정할 수 있다.

따라서 吳茱萸의 芳香性物質은 摘出腸管運動의 抑制와 腸管平滑筋의 弛緩作用에 主로 작용하는 物質로 보여지며 또한 鎮痛效果에 있어서는 芳香性物質과 또다른 成分의 複合作用에 의하여 나타나는 것으로 思慮된다.

結 論

吳茱萸(*Evodiae Fructus*)로부터 芳香性物質(Eol)을 分離하여 이 物質이 家兔摘出腸管運動에 미치는 影響을 觀察하였고 Eol과 吳茱萸 ethanol 엑스(EtHex)의 鎮痛作用을 檢討한바 다음과 같은 實驗結果를 얻었다.

1. Eol은 家兔摘出腸管의 현저한 弛緩作用과 motility의 減少를 나타내었으며 이 효과는 濃度에 比例하였다.
2. Eol은 acetylcholine의 腸管平滑筋收縮作用에 拮抗效果를 나타내었다.
3. Serotonin과 histamine에 의한 腸管平滑筋收縮作用은 Eol로 억제되었다.
4. Dihydroergotamine의 腸管平滑筋收縮作用은 Eol에 의하여 억제되었다.
5. Acetic acid stimulating method에 의한 Eol 및 EtHex의 鎮痛效果가 認定되었다.
6. Eol은 家兔血壓과 呼吸에는 별다른 影響을 미치지 않았다.

以上の 결과로 보아 吳茱萸의 Eol은 家兔摘出腸管平滑筋의 弛緩作用의 main substance로 생각되며 이는 acetylcholine, histamine, serotonin 및 dihydroergotamine과의 相互間에 antagonist로서 작용하는 것 같으며 한편으로는 平滑筋에 대한 직접작용도 關여하는 것으로 推定된다.

參 考 文 獻

- 1) 韓大錫, 劉時明 : 本草學 174p 東明社 서울(1974)

- 2) 刈米達夫, 木村雄四郎: 最新和漢藥用植物 208~209 p 廣川書店(1968)
- 3) 李尚仁: 本草學 403~404p 醫藥社(1975)
- 4) 廣松勝左衛門: 果實成分 *evodin*, *evodiamine*, 및 *rutaecarpine* 의 分離, 日藥誌 22, 979(1902)
- 5) 朝比奈泰彦: 果實成分 *evodine* 의 分離, 日藥誌 35, 1148~1273(1915)
- 6) 山崎幹夫: 果實成分 *rhetsinin* 의 分離, 日藥誌 87, 608(1967)
- 7) 廣瀬良男: 果實成分 *evodol* 分離, *Chem. Pharm. Bull*, 11, 535(1963)
- 8) 清水茂松: 藥理作用, 東京醫 30, 1315(1916)
- 9) 根本豊治: 藥理作用, 東京醫 36, 815(1922)
- 10) 山田省: 藥理作用, 岐阜醫紀 5, 269, 278, 360 (1957)
- 11) 韓·高·鄭: *Pharmacology Laboratory* 73p(1979)
- 12) 田村豊幸: 藥理學實驗法, 232p(1964)
- 13) Whittle B.A.: *Brit. J. Pharmacol.* 22, 246 (1949)
- 14) Siegmund E., Cardmus R. and Lu G.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 95, 729(1959)
- 15) Koster R. Anderson M. and Debeer E.J.: *Fed. Proc.* 18, 412(1959)
- 16) 韓龜東, 李南淳: 大韓藥典註解 第二改正 第 I 部 A-99~109(1969)
- 17) Bebbington, A., and Brimblecombe, R.W.: *Muscarinic receptors in the peripheral and central nervous systems. Adv. Drug Res.* 2, 143~172(1965)
- 18) Miller, J.W., and Lewis, J.E.: *Drugs affecting smooth muscle. A. Rev. Pharmac.* 9, 147~172 (1969)
- 19) Poton, W.D.M., and Vane, J.R.: *An analysis of the responses of the isolated stomach to electrical stimulation and to drugs. J. Physiol. Lond.*, 165, 10~46(1963)
- 20) Bülbring, E.: *The intrinsic nervous system of the intestine and local effects of 5-hydroxytryptamine. In, Regional Neurochemistry. Pergamon press, Ltd., Oxford,* 437~441(1961)
- 21) Innes, I.R.: *Identification of the smooth muscle excitatory receptors for ergot alkaloids. Br. J. Pharmac. Chemother.*, 19, 120~128(1962)