

蛇莓의 生理 活性에 관한 研究

李仁蘭 · 李殷芳* · 李羨禧 · 李芝英

梨花女子大學校 藥學大學, 서울大學校 生藥研究所*

Biologically Active Components of *Duchesnea indica* Herba

Ihn Rhan LEE, Eun Bang LEE,* Sun Hee LEE and Jee Young LEE

College of Pharmacy, Ewha women's University, Seoul 120, and Natural Products

Research Institute, Seoul National University,* Seoul 110, Korea

Abstract—The whole plant of *Duchesnea indica* (Andr.) Focke (Rosaceae) which has been used in folklore in treating amenorrhea, inflammation, fever and traumatic injuries, in detoxifying and breaking up clots, was studied. The pharmacological test showed that the water extract had estrogenic and histaminergic actions, but no antiserotonin action. As a result of systematic separation in order to detect the active compounds revealing the estrogenic effect, the active compounds were found in the ether fraction. TLC of the ether fraction revealed 8 spots. Among them three major spots ($R_f=0.54, 0.37, 0.31$) were separated by preparative TLC. Some chemical properties of those major spots suggested that they were phenolic compounds, but that they were neither linoleic acid nor β -sitosterol previously reported.

Keywords—*Duchesnea indica* · Rosaceae · estrogenic action · histaminergic action

蛇莓(사매)는 *Duchesnea indica* (Andr.) Focke (Rosaceae)로서 우리나라, 중국 및 아시아 일부 지역에 분포되어 野生하고 있는 多年草이다.¹⁻³⁾

한방에서는 淸熱, 解毒, 消炎, 止血, 抗腫瘤, 通月經作用이 있다고 기재되었으며³⁻⁸⁾, 민간에서는 그 외에 胎熱, 齒痛에도 사용하여 왔다.⁹⁾

임상적으로는 白喉¹⁰⁾, 細菌性痢疾¹¹⁾, 急性穿孔性 闌尾炎¹²⁾에 치유 효과가 있음이 밝혀져 있으며, 漢方醫藥大事典에 따르면, 동물 실험 결과 抗腫瘤作用이 있으며, 金黃色葡萄球菌, 腦膜炎球菌, 痢疾桿菌, 傷寒桿菌에 대해 억제 작용이 있다고 하였다.⁸⁾

또한, 화학적으로는 Mitsuhashi 등이 種子油에서 linoleic acid 53.1%, 非 saponin性 物質로서 β -sitosterol 89.5%가 함유되어 있다고 보고한 바

있다.⁶⁾

그러나, 여러 한방 문헌에 약효와 효능이 수재되어 있고 임상에서도 응용되고 있는 蛇莓에 대해 약리 작용 및 성분과 관한 실험적 연구가 아직 미비한 상태이며, 저자는 이미 분리 보고되어 있는 linoleic acid와 β -sitosterol로는 위의 생리 활성에 대응하기에 미흡한 점이 많은 것으로 믿어, 우선 estrogen 效能作用, histamine에 대한 작용 및 serotonin에 대한 약리 작용을 규명하려고 하였다. 수성 엑기스에서 나타난 estrogen 效能作用을 ether 분획, n-butanol 분획 및 수성 분획에서 腸管實驗 및 腔垢標本像의 檢鏡을 통해 살펴본 결과, ether 분획에서 효과가 강하였으므로 그 ether 분획의 성분을 검색하였다.

實驗 材料 및 方法

1. 材料, 試藥 및 機器

1982년 7월 서울 근교에서 채집한 사매의 전초를 음건한 후 분쇄하여(2kg), 그 중 1kg를 취해서 물로 3회 8시간씩 가열 추출하였다. 추출액을 감압 농축하여 생긴 사매의 H₂O 엑기스 88.4g을 Scheme I에 따라 분획하였다. 즉 수층을 Et₂O(12l)로 반복 추출하여 Et₂O 분획 15.0g을 얻었고, 그 잔사를 n-BuOH(5l)로 다시 반복 추출하여 BuOH 분획 16.0g을 얻었으며, 그 나머지를 감압 농축하여 H₂O 분획 53.4g을 얻어 시료로 사용하였다. Et₂O 분획 및 BuOH 분획은 sodium carboxymethyl cellulose 및 tween 80에 균등히 용해시켜 사용하였고 CMC-Na는 0.9% NaCl 용액에 현탁시켜 0.5% 용액으로 사용하였으며, diethylstilbestrol은 corn oil에 녹여 사용하였다. 또한, oxytocin은 대한중의 제약 제품, histamine dihydrochloride는 Merck제, serotonin은 Sigma 제품을 사용하였으며, 적출 장관 실험에 있어서의 영양액은 Locke-Ringer solution으로 하여 실험하였다.

적출 장관 실험은 Narco Biosystems MK-IV, universal coupler type 7189 및 transducer coupler type 7173을 사용하였으며 IR은 Perkin-Elmer R32, UV는 Gilford Model No. 2600을 사용하여 측정하였다.

2. 實驗 動物

동일한 조건에서 사육하여 실험실 환경에 적응된 체중 150~220g의 Sprague-Dawley계 임신한 적이 없는 암컷 흰쥐 및 830±40g의 guinea-pig, 20±2g의 dd계 암컷마우스를 사용하여 22±2°C의 실온하에서 실험하였으며, 실험 중 고형사료 및 물을 충분히 공급하였다.

3. 腫瘍 標本像의 檢鏡

암컷 흰쥐의 정상 생리 주기를 먼저 관찰한 다음, proestrous 또는 estrous phase인 有核角化細胞 또는 角化細胞가 발견되었을 때부터 하루에 두번씩 Et₂O 분획 330mg/kg, BuOH 분획 330mg/kg, H₂O 분획 400mg/kg를 estrous phase가 계속될 때까지 각각 피하주사하면서 그 주기의

변화를 살폈다. 이때, 검액의 독성 여부를 검색하기 위해 검액 주입시의 체중의 증감을 살폈다.

4. 急性 毒性 實驗

10마리의 마우스를 1群으로 하여 4시간 絶食시킨 뒤에 estrogen 效能作用이 있는 Et₂O 분획, 2,000mg/kg를 각각 경구 투여하고, 1,000mg/kg 용량을 각각 피하주사한 후 72시간까지의 마우스의 생존여부를 관찰하였다.

5. 摘出子宮에 대한 實驗

암컷 흰쥐에 H₂O 엑기스 및 H₂O 분획을 각각 200mg/kg, 600mg/kg, Et₂O 분획 및 BuOH 분획을 각각 110mg/kg, 330mg/kg씩 하루에 두번씩 2일간 피하주사한 뒤 경동맥을 절단하여 致死케 한다. 적출 자궁 실험은 常法에 의하여 자궁을 적출하여 27°C를 유지하면서 oxytocin 5×10⁻⁵, 5×10⁻⁴ 및 5×10⁻³ IU/ml 각 용량을 주입시켰을 때 나타나는 적출 자궁의 수축 강도를 biograph recording paper에 기록시켜 검체투여로 인한 자궁 수축 강도의 변화를 관찰하였다.

6. Histamine에 대한 效果

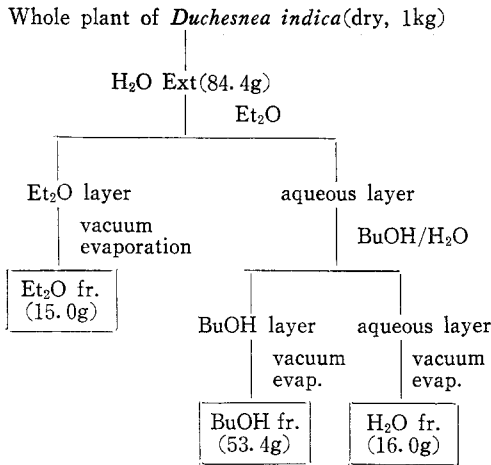
guinea-pig의 回腸을 적출하여 37°C의 온도를 유지하면서 H₂O 엑기스 1×10⁻⁷, 3×10⁻⁷, 1×10⁻⁶g/ml을 각각 주입함에 따라 3분 후에 투여되는 histamine 3×10⁻⁸g/ml로 인한 guinea-pig 回腸의 수축 강도 변화를 조사하였다. 또한 같은 방법으로 항히스타민제인 chlorpheniramine 5×10⁻⁷, 1×10⁻⁶, 5×10⁻⁶, 1×10⁻⁵g/ml을 각각 주입하고 3분 후에 일정 수축 강도를 나타내는 H₂O 엑기스 3×10⁻⁴g/ml을 계속 주입시켜, chlorpheniramine에 의한 guinea-pig 回腸의 수축 강도 변화를 측정하였다.

7. Serotonin에 대한 效果

흰쥐의 fundus를 적출하여 strip을 만들어 31°C로 Magnus관 내의 온도를 유지하면서 H₂O 엑기스 1×10⁻⁵, 3×10⁻⁵, 1×10⁻⁴g/ml을 각각 주입하고 3분 후에 serotonin 1×10⁻⁵g/ml을 주입하였을 때, serotonin의 수축 강도에 미치는 영향을 실험하였다.

8. 物質의 理化學的 性質

estrogen 效能作用이 있는 ether 분획을 silica gel G TLC에서 CHCl₃: EtOAc:MeOH=8:3:1



Scheme I. Extraction and fractionation of water extract of *Duchesnea indica*.

의 용매계로 전개시켜 자외선 조사와 I₂ vapor로 확인하여 그중 크고 뚜렷한 반점을 preparative TLC를 이용하여 분리하였다. 분리된 검체 (I, II, III)에 대해 FeCl₃시액 및 anthrone test, N-

KOH액, Pb(Ac)₂에 대한 정색여부를 관찰하였고, Dragendorff시약, Valser시약 및 Ninhydrin 시약을 이용하여 질소의 유무를 규명하려하였다. 또한 Liebermann-Burchard 반응 및 Mg+HCl에 대한 반응정도를 살폈으며, IR-spectrum을 측정하였다.

結果 및 考察

1. Estrogen 効能 作用

H₂O 엑기스 200 또는 600mg/kg의 前處置群은 oxytocin 적용 용량에 있어서, 대조군에 비해 유의성있는 자궁 수축의 증가를 보여 주었다. 이 결과는 Table I에 표시하였다.

그 활성 성분을 분리할 목적으로 실시한 계통 분획에서, Et₂O 엑기스 110, 330, 550mg/kg을 前處置하였을 때에 oxytocin 5×10⁻⁵~5×10⁻³ IU/ml에 의한 자궁 수축 강도는 前處置 用量에

Table I. Potentiation of oxytocic activity of fractions of *Duchesnea indica* in rat uterus

Sample	Dose mg/kg, s.c.	No. of assays	Contraction tension (g) ¹⁾		
			Dose of oxytocin (IU/ml in bath)		
			5×10 ⁻⁵	5×10 ⁻⁴	5×10 ⁻³
Saline	—	8	0.55±0.22	0.98±0.17	1.46±0.25
H ₂ O Ext.	200	7	1.01±0.18* (84.1)	1.28±0.11	1.65±0.25
	600	7	1.10±0.26* (99.0)	1.42±0.16** (44.8)	1.96±0.20** (34.4)
Et ₂ O Ext.	110	9	0.26±0.11 (54.8)	1.57±0.21	2.26±0.28* (54.8)
	330	8	1.14±0.23* (108.6)	2.17±0.30	2.53±0.25** (73.0)
	550	6	1.38±0.10** (152.8)	2.62±0.11** (166.8)	2.81±0.15** (92.1)
BuOH Ext.	110	5	0.41±0.17	0.90±0.14	1.28±0.12
	330	5	0.44±0.14	0.85±0.21	1.24±0.30
H ₂ O Ext.	110	5	0.47±0.08	0.95±0.08	1.43±0.10
	330	5	0.52±0.11	1.05±0.13	1.56±0.13
diethylstilbestrol	2.5	9	0.78±0.09	1.44±0.10* (46.7)	1.87±0.12* (27.6)

The above samples were administered subcutaneously twice a day for 2 days before assays.

1) Values are means±S.E.

2) The figures in parentheses indicate the percentage of potentiation.

* Significantly different from control group (p<0.05)

** Significantly different from control group (p<0.01)

Table II. Prolongation of duration of estrous phase after daily doses of samples in female rats

Sample	(Dose, mg/kg, s.c.)	No. of animals	No. of normal estrous	No. of prolonged estrous
Et ₂ O fraction	330	6	1	5
BuOH fraction	330	5	5	0
H ₂ O fraction	400	4	4	0
diethylstilbestrol	2.5	4	0	4

비례하여 증가하였는데 이것을 diethylstilbestrol 2.5mg/kg의 작용과 비교해 보았을때 Et₂O 분획 330mg/kg의 작용보다 약함을 알 수 있었다. 반면 BuOH 분획 및 H₂O 분획의 前處置群은 대조군과 같은 정도의 자궁 수축을 나타내어 그 수축 강도에 아무런 영향을 주지 못하였다.

두번째 방법으로 膣垢標本像을 檢鏡했을 때에는 diethylstilbestrol을 투여한 후 실험군은 모두 estrous phase가 2~3일간 지속되었으므로 각 분획에 대하여서도 같은 실험을 한 결과, Table II와 같이 Et₂O 분획에서는 6마리 중 5마리에서 estrous phase가 3~4일간 지속된 반면, BuOH 분획 및 H₂O 분획 투여군에서의 생리 주기는 정상 상태를 그대로 유지해 estrous phase에 영향을 미치지 않음을 확인하였다.

이상의 약리실험 결과로 사마는 estrogen 效能作用이 있음을 확인한 바, 민간에서 통경제로 사용하고 있는것과 相關性이 있으며 이것은 ether 층의 활성 성분에 기인된 것임을 알 수 있었다.

2. 急性 毒性

Et₂O 분획의 최소치사량은 경구 투여시에는 2,000mg/kg 이상, 피하 투여시에는 1,000mg/kg 이상으로서 독성이 약함을 알 수 있었다. 이 결과는 Table III에 표시하였다.

3. Histamine에 대한 作用

guinea-pig 回腸의 histamine 3×10⁻⁸g/ml의 수축에 대한 길항은 Fig. 1과 같이 H₂O 엑기스 자체내의 수축 작용이 없는 용량, 1×10⁻⁷, 3×10⁻⁷ 및 1×10⁻⁶g/ml의 前處置에 의하여 거의 영향을 받지 않았다.

4. Histamine 效能性 作用

H₂O 엑기스 1×10⁻⁵g/ml 이상의 용량을 투여했을 경우의 용량 작용 곡선은 Fig. 2와 같이 나타냈다. chlorpheniramine을 antagonist로 하여 수축 강도의 변화를 본 결과, Table IV와

Table III. Acute toxicity of Et₂O fraction in female mice

Animal	Administration route	No. died/No. used	MLD (mg/kg)
Mouse	p.o.	0/10	2,000<
Mouse	s.c.	0/10	1,000<

Observation time is 72 hrs.

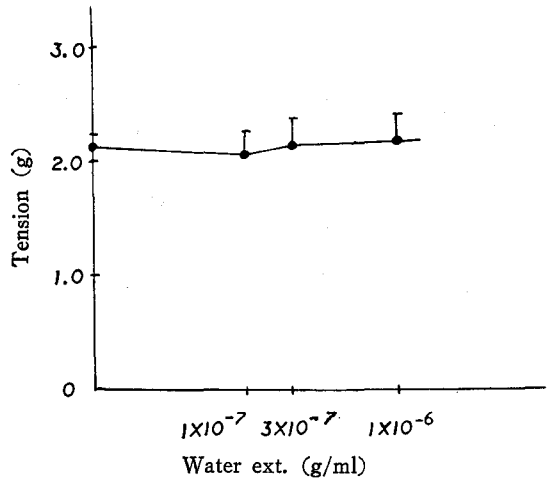


Fig. 1. The effect of water extract on histamine-induced contraction in guinea-pig ileum. The concentration of histamine is 3×10⁻⁸g/ml in bath.

같이 항히스타민제의 농도에 비례적으로 길항하는 것을 볼 수 있어 histamine 效能作用이 있음을 확인하였다.

5. Serotonin에 대한 作用

흰쥐 fundus strip의 serotonin에 대한 수축 강도는 H₂O 엑기스를 농도 비례로 前處置한 후에도 별로 변화를 보이지 않아 serotonin에 대해서는 작용이 없음을 알 수 있었다. 이 결과는 Table V에 표시하였다.

이와같이 사마의 전초를 민간에서 소염제로 사용하고 있다고 하여 실시한 histamine 및 sero-

Table IV. Histaminergic effect of water extract in guinea-pig ileum

Agonist	Antagonist	Dose (g/ml, bath)	No. of assays	Contraction tension (g) ¹⁾	Inhibition (%)
H ₂ O Ext.	Chlorpheniramine	3 × 10 ⁻⁴	16	1.76 ± 0.09	—
		5 × 10 ⁻⁷	6	1.13 ± 0.18	36.1
		1 × 10 ⁻⁶	6	0.65 ± 0.07	63.2
		5 × 10 ⁻⁶	6	0.40 ± 0.07	76.8
		1 × 10 ⁻⁵	6	0.09 ± 0.05	94.8

1) Values are means ± S.E.

Table V. The effect of water extract on serotonin-induced contraction of rat fundus strips

Agonist	Antagonist	Dose(g/ml, bath)	No. of assays	Contraction tension (g) ¹⁾	Inhibition (%)
Serotonin	H ₂ O Ext.	1 × 10 ⁻⁵	19	1.46 ± 0.11	—
		1 × 10 ⁻⁵	4	1.54 ± 0.36	-5.7
		3 × 10 ⁻⁵	4	1.38 ± 0.11	4.6
		1 × 10 ⁻⁴	8	1.36 ± 0.18	6.3

1) Values are mean ± S.E.

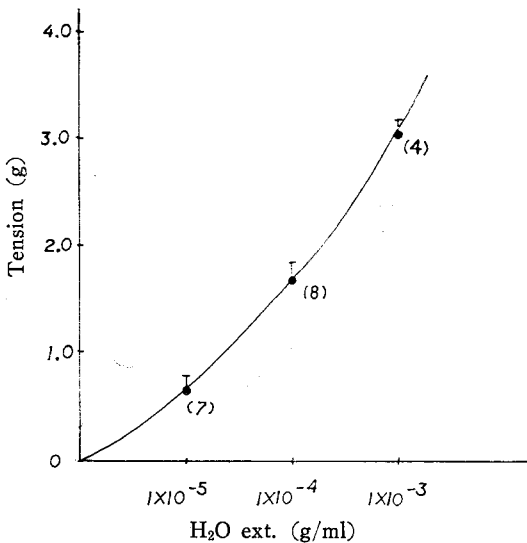


Fig. 2. Dose-response curve of water extract in guinea-pig ileum. The figures in parentheses indicate the number of assays.

tonin과의 상관관계 실험에서 길항작용이 없으므로 소염작용이 있어도 이들 mediator와는 관계가 없음을 확인할 수 있다.

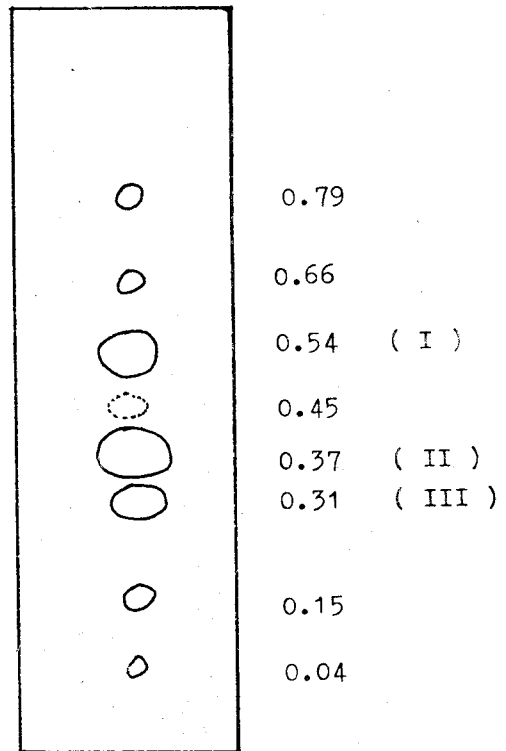


Fig. 3. TLC pattern of ether fraction. Solvent system; CHCl₃: EtOAc:MeOH=8:3:1, coloring reagent; I₂ vapor, UV lamp

6. 生理活性物質의 分離 追究

Et₂O 분획의 TLC Pattern은 Fig. 3과 같다. estrogen 效能을 현저히 나타내는 이 분획 중 TLC 상에 나타나는 물질 I, II, III은 Mg+HCl에 정색되지 않으므로 flavonoid는 아니지만 alkali 용액에 정색되고 Pb(Ac)₂로 침전하는 점은 或種의 phenol성 성분임을 예상케 한다. 이들 물질은 FeCl₃ 반응에 양성, Dragendorff 반응에 음성, Valser 반응에 음성, Ninhydrin 반응에 음성, Lieberman-Burchard 반응에 음성이며, IR에서 3,400cm⁻¹의 broad하고 강력한 흡수가 보이는 점 등은 phenol성 수산기를 갖고 있는 화합물임을 시사해 준다.

그외에 본식물에서 linoleic acid 및 β-sitosterol 등이 함유되고 있는 것으로 보고되고 있으나 이들 I, II, III 물질들은 이미 보고된 상기 성분과는 다르다는 것은 spectrum 해석에서 알 수 있었다.

結 論

蛇莓 *Duchesnea indica*(Andr.) Focke(Rosaceae) 전초의 H₂O 엑기스는 estrogen 效能作用과 histamine 效能作用을 나타냄을 확인하였다.

H₂O 엑기스가 힌쥐의 자궁 수축 감수성을 증가시키므로 그 활성 성분을 분리해 내고자 ether 및 n-butanol로 계통 분획을 실시한 결과, 腸管實驗 및 腔垢標本像의 檢鏡을 통하여 그 활성 성분은 ether 층으로 移行되어 estrogen 效能作用을 나타내었다. 그 ether층의 주요한 성분들은 Rf=0.54, 0.37, 0.31(CHCl₃: EtOAc:MeOH=

8:3:1)이고, 이화학적 및 분광학적 실험에 의해 이미 분리 보고된 linoleic acid나 β-sitosterol과는 다른 물질이었으며 phenol성 수산기를 가지고 있는 화합물임을 알 수 있었다.

〈1984년 3월 25일 접수; 4월 26일 수리〉

文 獻

1. 이창복: 대한식물도감, 향문사, 서울, p. 432 (1982).
2. 寺山 奇: 日本植物圖譜, 平凡社, 東京, p. 338 (1977).
3. Iconographia Cormophytorum Sinicorum, II, 중국과학원 식물연구소(編), 과학출판사, 북경, p. 287 (1972).
4. 白井光太郎, 鈴木眞海 譯, 頭註 國譯 本草綱目, 草部, 第六册, 春陽堂, 東京, p. 175 (1931).
5. 赤松金芳: 新訂 和漢藥, 醫齒藥出版, 東京 p. 378 (1970).
6. 中葯大辭典, 江蘇新醫學院(編), p. 2116 (1978).
7. 中醫病方治手(Chinese Medical Plant), p. 877 (1974).
8. 陳在仁: 圖說 漢方醫藥大事典, 第 4 卷, 講談社, 東京, p. 219, 232 (1982).
9. Lee, S. J.: Korean Folk Medicine, monographs series, No. 3, 동명사, 서울, p. 68 (1970).
10. 全展造編, 傳染病, 第二分册, 11 (1970).
11. 南通醫學院附屬醫院, 醫學教學參考資料, p. 17 (1972).
12. 新醫葯染志, 2, 24 (1975).
13. Mitsuhashi, T., Shibuya, Y. and Endo, S.: Dai-4-Bu, Tokyo Gakugei Daigaku Kiyo, 23, p. 77 (1971).