

민간약 사철나무의 생약학적 연구

박우성¹ · 정혜진¹ · 배지영¹ · 박종희^{2*} · 안미정^{1*}

¹경상대학교 약학대학, ²부산대학교 약학대학

Pharmacognostical Studies on the Folk Medicine “SaCheolNaMu”

Woo Sung Park¹, Hye-Jin Chung¹, Ji-Yeong Bae¹, Jong Hee Park^{2*}, and Mi-Jeong Ahn^{1*}

¹College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract – “SaCheolNaMu” has been used as a Korean folk medicine for the jaundice, lumbago and uterine diseases. Although a crude drug related to this folk medicine is sold in traditional herbal market, the botanical origin of this drug has not been pharmacognostically confirmed yet. In this study, the morphological and anatomical characteristics of the stem of *Euonymus* species growing in Korea, i.e. *Euonymus japonica* and *E. fortunei* var. *radicans* were studied to clarify the botanical origin of “SaCheolNaMu”. As a result, it was found that these two species could be discriminated by the morphological criteria such as the thickness of cuticles, the number of collenchyma cell layers, and the frequency of druse and resinous substance. According to these criteria, it was elucidated that the commercial folk medicine “SaCheolNaMu” was the stem of *E. japonica*. Meanwhile, HPLC-DAD analysis on the 70% ethanolic extracts of two species showed significantly different HPLC profiles each other. The molecular ions of three characteristic peaks shown in the chromatogram of two species were identified by ESI-MS, and their structures were estimated to be flavonol glycosides.

Key words – *Euonymus japonica*, *E. fortunei* var. *radicans*, SaCheolNaMu, Botanical origin, Anatomical study, HPLC fingerprint

중국에서는 노박덩굴과(Celastraceae)에 속하는 사철나무 *Euonymus japonica*의 잎을 대엽황양엽(大葉黃楊葉)이라고 하여 해독약으로 사용하고 있으며, 그 뿌리는 대엽황양근(大葉黃楊根)으로 활혈조경(活血調經), 월경불순(月經不順), 통경(通經)의 치료약으로, 가지와 뿌리껍질은 대엽황양(大葉黃楊)이라 하여 골절과 토혈의 치료에 사용하고 있다.^{1,2)} 우리나라에서는 사철나무의 수피가 두충의 대용생약인 화두충(和杜沖)으로 사용되어 왔으며, 그와 관련한 혈압강하작용³⁾ 및 형태학적 연구⁴⁾가 보고되어 있다.

Euonymus 속 식물의 성분학적 연구로는 triterpenoids, sesquiterpenes, flavonoids, alkaloids, steroids, cardenolides, lignans를 비롯한 200여 개의 성분이 분리 보고⁵⁾되었으며, 약리작용으로는 면역조절작용⁶⁾, 살충작용⁷⁾, 항종양작용⁸⁾, 항바이러스작용⁹⁾ 등이 알려져 있다. 최근에는 사철나무의 수

피에서 glycosphingolipid계열 화합물이 분리¹⁰⁾되었으며, 줄 사철나무의 지상부로부터 flavonoid계열의 화합물이 분리되었다.¹¹⁾

한편, 우리나라에서는 사철나무의 가지를 황달, 요통, 자궁출혈의 치료약으로 사용하고 있다.^{12,13)} 그러나, 우리나라에서 민간약으로 사용되고 있는 「사철나무」는 그 기원이 확인되지 않은 상태에서 유통되고 있으므로, 시장품 「사철나무」의 기원을 명확히 할 목적으로 우리나라에 자생하고 있는 사철나무 *Euonymus japonica* Thunb.와 줄사철나무 *E. fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz. var. *radicans* (Sieb.et Zucc.) Rehder¹⁴⁾의 가지를 비교조직학적으로 검토하였으며, 70% 에탄올 추출물에 대한 HPLC pattern을 얻어 이들의 성분학적 차이를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료 – 실험에 사용된 비교식물 및 시장품은 부산대학교 약학대학 생약학교실에 소장하고 있다.

*Both corresponding authors contributed equally to this work.
*W. S. Park and H.-J. Chung contributed equally to this work as first authors.
*교신저자(E-mail): abpark@pusan.ac.kr, amj5812@gnu.ac.kr
(Tel): +82-51-510-2806, +82-55-772-2425

a) 비교식물

1. 사철나무 *Euonymus japonica* Thunb. : 부산광역시 운봉산(No. 31105~31110)과 금정산(No. 31111~31115), 경상남도 천성산(No. 31116~31120)에서 채집하였다.

2. 줄사철나무 *Euonymus fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz. var. *radicans* (Sieb. et Zucc.) Rehder: 경상북도 울릉도(No.31121~31125), 경상북도 영덕(No. 31126~31130), 제주도 비자림(No. 31131~31135), 부산광역시 운봉산(No. 31136~31140)에서 채집하였다.

b) 시장품 「사철나무」

부산시 노포동 오시계 시장(No. 2315)과 경상북도 영덕시장(No. 2316)에서 구입하였다.

형태학적 분석 - 본 실험을 함에 있어서 시장품 「사철나무」는 직경 2~4 mm의 가지로 되어 있으므로, 비교식물의 직경 2~4 mm의 가지를 Doska microslicer를 이용하여 15~30 μm 두께의 횡절면과 종절면을 절취하였다. 이를 필요에 따라서 chloral hydrate, eau de javelle, methylene blue 등을 처리하여 Olympus A041 광학현미경과 Olympus SZH 10 입체현미경을 사용하여 기존의 보고된 방법¹⁵⁻¹⁷⁾에 따라서 비교 검토하였다.

추출액의 제조 - 건조된 시료를 믹서기로 분쇄한 후, 0.7 g을 취하여 70% 에탄올 70 ml에 넣어 60분씩 총 3번 초음파 추출하였다. 추출액을 여과지(Whatman No. 2, USA)로 거른 다음, 여과액을 감압건조한 후 동결건조하였다. HPLC-DAD분석에는 동결건조물을 70%에탄올에 녹여 100 mg/ml 농도로 만든 후 100 μl를 취하여, 미리 메탄올로 활성화시키고 물로 치환시킨 Sep-Pak® Plus C18 cartridge(Waters Co., MA, USA)에 주입한 후 3 ml의 물과 3 ml의 100% 메탄올로 차례로 용출시켰다. 메탄올로 용출시킨 용액을 농축하여 전체 부피를 300 μl로 맞춘 후 HPLC에 주입하였다.

HPLC-DAD 분석 - 컬럼은 Phenomenex사 Gemini C18 column(250×4.6 mm, I.D., 5 μm)을 이용하였고, 컬럼의 온도는 35°C로 유지하였다. 이동상으로는 water(A)와 acetonitrile(B)을 사용하였으며, 유속은 0.8 ml/min로, 처음 5분간은 10% acetonitrile로 유지하였고, 그 이후 35분간은 10%에서 30%로 조성을 변화시켰으며, DAD를 이용하여 210, 254, 365 nm에서 피크를 확인하였고, 시료액은 10 μl씩 주입하였다. 데이터의 수집 및 처리는 Agilent Chemstation software를 사용하였다. HPLC 패턴분석을 위한 통계분석에는 SIMCA 13 statistical software(Umetrics, Sweden)를 사용하여 OPLS-DA(orthogonal projections to latent structure-discriminant analysis) 다변량분석을 실시하였다.

ESI/MS를 이용한 Peak 동정 - ESI/MS의 측정에는 Agilent 1260 infinity binary HPLC system(Agilent, Germany)과 Agilent 6460 Triple-Quadrupole mass spectrometer(Agilent Technologies, Inc., Singapore)로 구성된 장

치를 이용하였다. HPLC column은 Phenomenex Kinetex® C18 column(50×2.6 mm, 2.6 μm)을 사용하였고, 이동상으로는 water(0.1% formic acid)와 acetonitrile의 혼합용매(80:20, v/v)를 사용하였으며, 0.3 ml/min의 유속으로 분석하였다. 질량분석기의 조건은 positive ESI mode로 시료를 이온화하였고, source temperature는 325°C, nebulizer pressure 30 psi, capillary voltage 4,000 V, fragment voltage는 120 V, collision energy 0-50 V의 조건에서 peak 3, 4, 5에 해당하는 물질의 total ion chromatogram(TIC)와 parent ion의 product ion scan spectrum을 통하여 각 피크에 해당하는 물질의 구조를 예상하였다.

결과 및 고찰

비교 식물간의 외부 및 내부 형태학적 평가

1. 사철나무 *E. japonica*

a) 외부형태: 가지의 표면은 녹색이었으며, 세로로 된 주름이 있었다.

b) 내부형태(Fig. 1A): 최외층은 각피층(10 μm 미만)으로

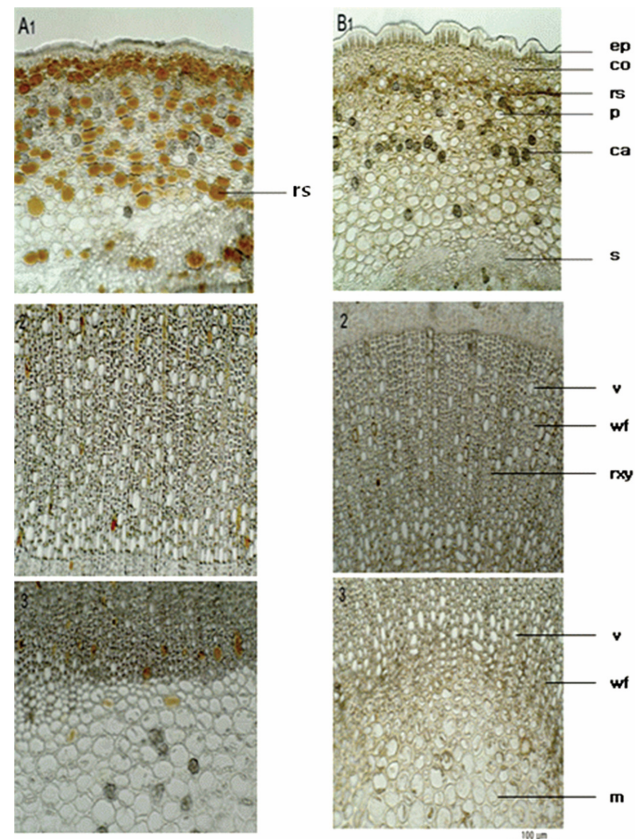


Fig. 1. Photomicrographs of the transverse sections of *E. japonica* (A) and *E. fortunei* var. *radicans* (B). (1, outer part; 2, xylem; 3, pith).

되어 있었으며, 각피층 아래에 존재하는 표피세포는 유원형으로 직경 10~30 μm 이었다. 표피 아래에는 2~3 세포층의 후각조직¹⁸⁾이 존재하였으며, 피층의 유세포는 유원형으로 직경 20~50 μm 이었다. 형성층은 명료하지 않았으며, 목부는 도관, 목부섬유 및 목부방사조직으로 구성되어 있었으며, 도관은 공문도관, 계문도관 및 나선문도관으로 이루어져 있었고, 그 직경은 10~35 μm 이었다. 목부섬유가 매우 발달되어 있었다. 목부방사조직은 1 세포열의 후막목화하는 세포로 되어 있었으며, 접선 종단면에서 볼 때, 방사조직은 가는 렌즈형으로 2~20 개의 평복세포와 양 끝에 1개의 직립세포¹⁹⁾로 구성되어 있었다. 수는 약간 목화되어 있는 유원형의 유세포로 이루어져 있었고, 그 직경은 30~50 μm 이었다. 피층과 수에 존재하는 유세포의 내부에는 직경 10~30 μm 에 달하는 수산칼슘의 집정이 많이 산재하여 있었으며 (120~130/mm²), 피층과 수에 걸쳐서 갈색의 수지상 물질^{20,21)}이 많이 산재하고 있었다(370~390/mm²) (Table I).

2. 줄사철나무 *E. fortunei* var. *radicans*

a) 외부형태: 가지의 표면은 연한 녹색이었으며, 약한 돌기가 있었다.

b) 내부형태(Fig. 1B): 최외층은 25~50 μm 두께의 각피층으로 되어 있었으며, 비교식물인 *E. japonica*의 각피층보다 발달되어 있었다. 표피세포는 유원형으로 직경 20~30 μm 이었다. 후각조직은 3~6 세포층으로 이루어져 있었는데 비교식물인 *E. japonica*의 가지보다 세포층의 수가 많았다. 유세포는 유원형으로 그 직경이 20~50 μm 이었다. 형성층은 명료하지 않았으며, 도관은 직경 10~30 μm 이었다. 목부방사조직은 1 세포열의 후막목화되어 있는 세포로 이루어져 있었으며, 접선 종단면에서 방사조직은 가는 렌즈형으로 2~20 개의 평복세포와 양 끝에 1개의 직립세포로 이루어져 있었다. 수의 유세포는 직경이 20~50 μm 이었다. 피층의 유조직에서 관찰되는 직경 10~30 μm 의 수산칼슘의 집정의 빈도가 220~250/mm²로 비교식물인 *E. japonica*의 120~130/mm²보다 많이 산재하고 있었으나, 수지상 물질의 경우에는

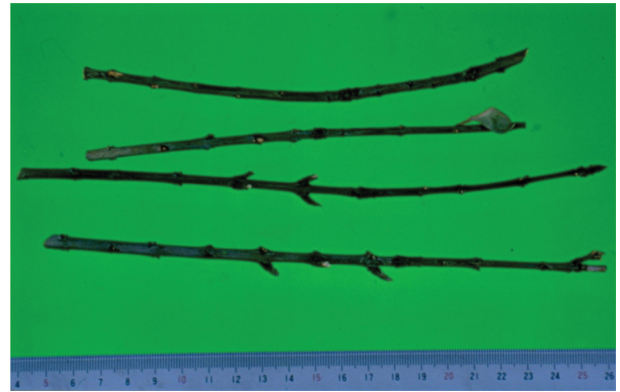


Photo 1. "SaCheolNaMu" from Korean traditional market.

70~90/mm²로 *E. japonica*의 370~390/mm²보다 현저하게 적게 분포하고 있었다(Table I).

시장품 「사철나무」의 외부 및 내부형태학적 평가

a) 외부형태(Photo 1): 시장품은 직경 2~4 mm의 가지의 건조품으로 길이 15~20 cm의 크기로 절단되어 있었으며, 표면은 연한 녹색을 띠고 있었고, 약간 쓴맛이었다.

b) 내부형태: 시장품의 내부형태는 사철나무 *E. japonica*의 가지와 완전히 일치하였다.

비교 식물의 HPLC 패턴 비교 - 비교식물인 *E. japonica*와 *E. fortunei* var. *radicans*의 성분학적 차이를 규명하기 위하여 70%에탄올 추출물에 대하여 HPLC-DAD를 실시하여 두 식물에 대한 HPLC profile을 얻었다(Fig. 2). 그 결과, 두 식물에 공통적으로 나타나는 1, 2, 4, 6번 피크를 관찰할 수 있었으며, *E. japonica*의 경우 특징적으로 21.4분과 23.8분에서 각각 나타나는 3번과 5번 피크가 주요 피크로 관찰되었으나, *E. fortunei* var. *radicans*의 경우에는 22.3분과 24.7분에서 각각 관찰되는 4번과 6번 피크가 주요 피크로 관찰되었다. 특히, *E. fortunei*의 경우, 4번 피크가 *E. japonica*에 비해 현저하게 높게 관찰되어 두 비교식물간의 유의적으로 다른 HPLC profile을 보여주었다. 3-5번 피크의 UV

Table I. Anatomical characteristics of the branch of *Euonymus* species

| Elements | Species | |
|---|--------------------|---|
| | <i>E. japonica</i> | <i>E. fortunei</i> var. <i>radicans</i> |
| Thickness of cuticles (μm) | < 10 | 25~50 |
| Diameter of epidermal cells (μm) | 10~30 | 20~30 |
| Number of layer of collenchyma cells | 2~3 | 3~6 |
| Diameter of vessels (μm) | 10~35 | 10~30 |
| Diameter of parenchyma cells of pith (μm) | 30~50 | 20~50 |
| Frequency of druse (number per mm ²) | 120~130 | 220~250 |
| Frequency of resinous substance (number per mm ²) | 370~390 | 70~90 |

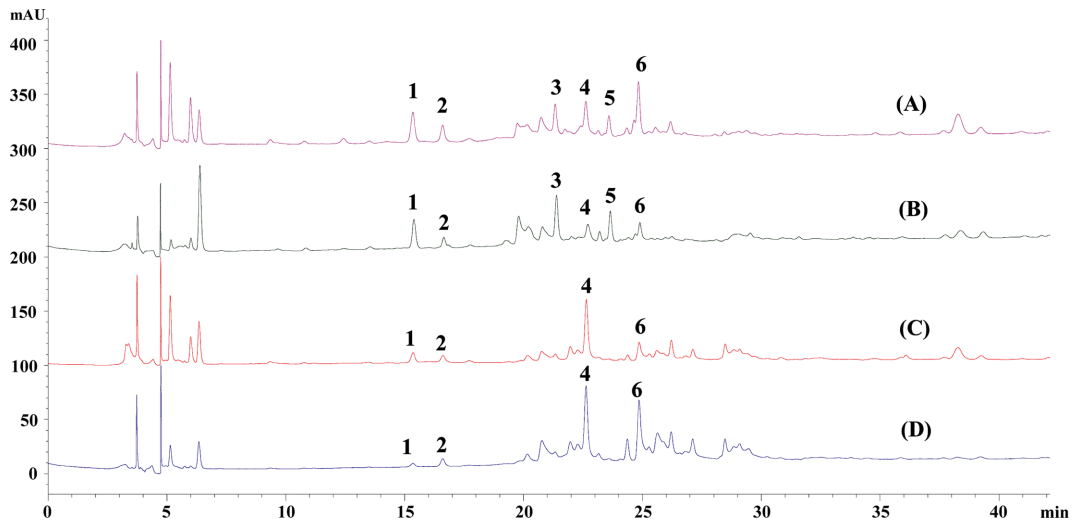


Fig. 2. HPLC Chromatograms of *E. japonica* (A and B, from No. 31105 and No. 31108, respectively) and *E. fortunei* var. *radicans* (C and D, from No. 31136 and No. 31137, respectively). No. 31105 and No. 31136, No. 31108 and No. 31137 were collected at the same day, respectively.

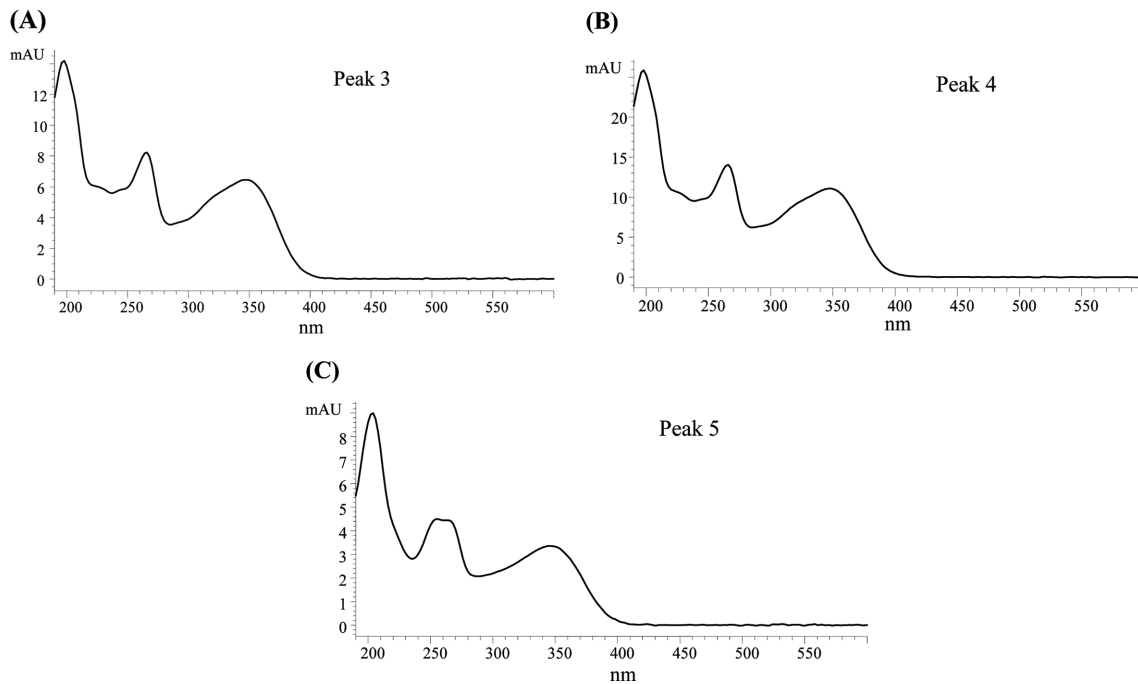


Fig. 3. UV spectrums (A, B and C) of peaks 3-5 in the chromatograms of *E. japonica* and *E. fortunei* var. *radicans*.

spectrum에서 264 nm와 351 nm부근에서 나타나는 flavonol 계열의 특징적인 흡수밴드 I, II가 관찰되어 이들 피크에 해당하는 화합물을 flavonol계열의 화합물로 추정하였다(Fig. 3)²²⁾. 각 피크의 ESI/MS에서는 m/z 903, 741, 919에서 관찰되는 $[M+H]^+$ 분자이온으로 각 화합물의 분자량을 902, 740, 918로 추정하였다(Fig. 4). 또한, 각각의 분자이온의 MS/MS 스펙트럼으로부터 3번 피크에 해당하는 화합물의 경우에는 kaempferol 모핵의 3번, 7번 위치의 말단 부위에 rhamnose

한 분자와 glucose 한 분자가 결합해 있으며 총 rhamnose 2 분자, glucose 2분자가 결합해 있는 flavonol glycoside(1)로 추정하였다. 사철나무의 지상부로부터 기존에 kaempferol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranosyl-7-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnopyranoside가 분리되고 있었으나²³⁾, 이 화합물의 경우 당부분의 말단 2군데 모두 glucose가 결합되어 있는 점에서 화합물 1과 다르다. 4번 피크의 경우에는 MS/MS 스펙트럼에서 $[M+H-Rha]^+$, $[M+H-$

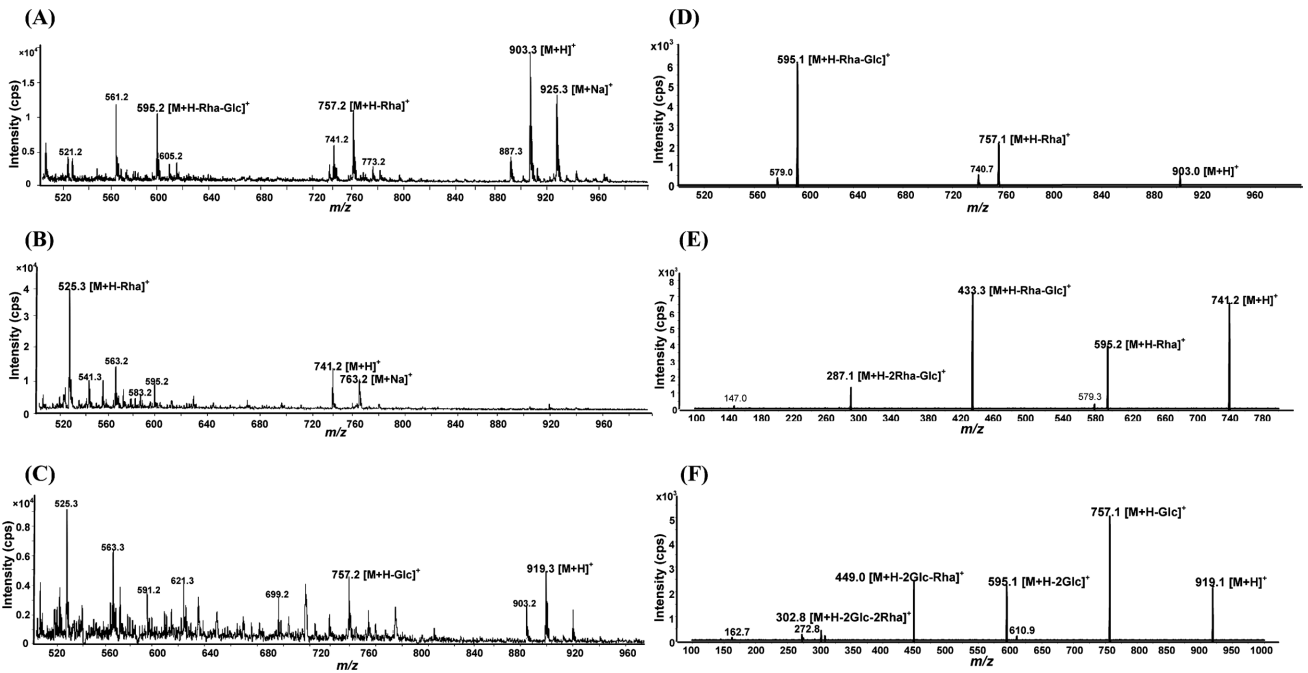
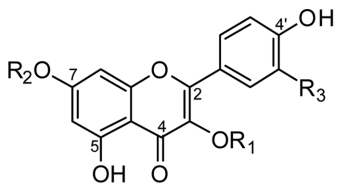


Fig. 4. ESI mass spectra (A, B and C) of peaks 3~5 in the chromatograms of *E. japonica* and *E. fortunei* var. *radicans* and MS/MS spectra (D, E and F) of the molecular ions at m/z 903, 741 and 919.



| | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|---|----------------|----------------|----------------|
| 1 | -Glc-Rha | -Rha-Glc | H |
| 2 | -Glc-Rha | -Rha | H |
| 3 | -Glc-Rha | -Rha-Glc | OH |

Fig. 5. Estimated chemical structures of the compounds showing peaks 3 (1), 4 (2) and 5 (3).

Rha-Glc]⁺, [M+H-2Rha-Glc]⁺에 해당하는 이온이 차례로 관찰되어 4번 피크에 해당하는 화합물의 구조를 kaempferol 모핵의 3번, 7번 위치의 말단 부위에 rhamnose가 한 분자씩 결합하고 있으며 glucose 한 분자가 더 결합해 있는 flavonol glycoside(2)로 추정하였다. 이 화합물은 화합물 1의 구조에서 glucose 한 분자가 떨어져 나간 구조이다. 화합물 5번 피크에 해당하는 화합물의 MS/MS 스펙트럼에서는 말단으로부터 각각 두 분자의 glucose와 rhamnose가 차례로 떨어져 나간 fragment ion이 관찰되었으며, 모핵의 분자량이 kaempferol보다 16 Da 많은 것으로 보아 quercetin의 모핵에 두 분자의 glucose와 rhamnose가 결합해 있는 flavonol glycoside(3)로 추정하였다.

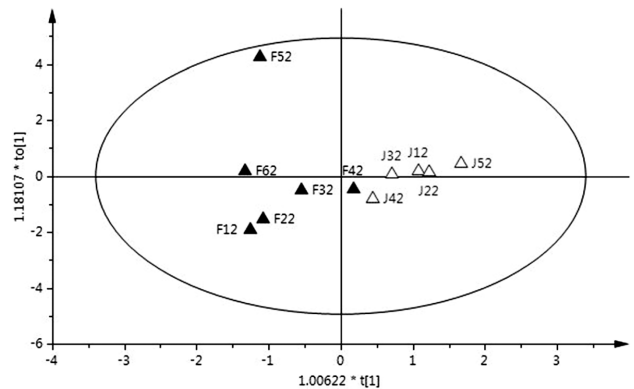


Fig. 6. Score plots by OPLS-DA for the HPLC profile data including peaks 3, 4 and 5 of *E. japonica* (J12~J52) and *E. fortunei* var. *radicans* (F12~F62) groups.

한편, 두 종의 HPLC profile을 이용한 OPLS-DA 다변량 분석결과 3-5번 피크의 면적에 따라 두 종이 유의성있게 분리됨을 알 수 있었다(Fig. 6).

결론

1. 우리나라에서 민간약으로 유통되고 있는 「사철나무」의 기원을 밝히고자 사철나무 *E. japonica*와 줄사철나무 *E. fortunei* var. *radicans*의 2 종에 대하여 형태학적 연구를 수행한 결과, 가지의 횡절면에 있어서 각피층, 후각조직, 집정과 수지상물질 등의 형태에 따라서 각각의 종을 명확히 구

분할 수가 있었다. 즉, 줄사철나무의 경우, 사철나무보다 각 피층이 더 발달해 있었으며, 후각조직을 이루고 있는 세포층이 3~6층으로 사철나무에서의 2~3층보다 많은 것으로 보아 줄사철나무의 후각조직이 더 많이 발달해 있다는 것을 알 수 있었다. 또한, 피층의 유조직에서 관찰되는 수산칼슘의 집적이 줄사철나무에서 사철나무보다 많이 산재하고 있었으나, 수지상 물질의 경우에는 사철나무에서 현저하게 많이 분포하고 있는 것을 관찰할 수 있었다.

2. 이상의 형태학적 결과를 바탕으로 시장품 「사철나무」를 비교조직학적으로 검토한 결과, 시장품 「사철나무」는 *E. japonica*의 직경 2~4 mm의 가지임을 확증할 수 있었다.

3. HPLC-DAD로 두 비교식물간의 HPLC profile 분석을 실시한 결과, 두 종간의 유의성있는 서로 다른 HPLC-profile을 관찰할 수 있었으며, 특징적인 3, 4, 5번 피크에 대한 UV 스펙트럼, ESI/MS, MS/MS 스펙트럼으로부터 이들 피크에 해당하는 물질이 flavonol 배당체임을 추정할 수 있었다.

List of abbreviations: **ca**, clustered crystal; **co**, collenchyma cell; **ep**, epidermis; **m**, pith; **p**, parenchyma cell; **rs**, resinous substance; **rx**, xylem medullary ray; **s**, sieve tube; **v**, vessel; **wf**, wood fiber.

사 사

이 논문은 산업통상자원부 및 한국산업기술진흥원의 재원으로 광역경제권연계협력사업(A004500005)의 지원과, 2012년도 경상대학교 학술진흥지원사업 연구비의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 中華本草編委會 (1999) 中華本草 5, 4099. 上海科學技術出版社, 上海.
- 江蘇新醫學院編 (1977) 中藥大辭典 下冊, 4025. 上海人民出版社, 上海.
- Chung, M. H. and Park, C. W. (1974) Studies on the development of antihypertensive agents from Korean crude drugs (II) Influence of *Euonymus japonicae* Cortex on the Blood Pressure of Rabbits. *Kor. J. Pharmacog.* **6**: 35-38.
- Chung, M. H. and Park, C. W. (1975) Studies on the development of antihypertensive agents from Korean crude drugs (I) Morphological comparisons of Korean and Chinese barks of *Eucommia ulmoides* and of *Euonymus japonicus* in Korea and *Euonymus pellucidifolia* in Taiwan. *Kor. J. Pharmacog.* **6**: 29-34.
- Zhu, J.-X., Qin, J.-J., Chang, R.-J., Zeng, Q., Cheng, X.-R., Zhang, F., Jin, H.-J., and Zhang, W.-D. (2012) Chemical constituents of plants from the genus *Euonymus*. *Chem. Biodivers.* **9**: 1055-1076.
- Wong, K.-F., Yuan, Y., and Luk, J. M. (2011) *Tripterygium wilfordii* bioactive compounds as anticancer and anti-inflammatory agents. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **39**: 311-320.
- Zhu, J., Wang, M., Wu, W., Ji, Z., and Hu, Z. (2002) Insecticidal sesquiterpene pyridine alkaloids from *Euonymus* species. *Phytochemistry* **61**: 699-704.
- Kuo, Y. H., King, M. L., Chen, C. F., Chen, H. Y., Chen, C. H., Chen, K., and Lee, K. H. (1994) Two new macrolide sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus emarginata*: emarginatine G and the cytotoxic emarginatine F. *J. Nat. Prod.* **57**: 263-269.
- Pusztai, R., Hohmann, J., Rédei, D., Engi, H., and Molnár, J. (2008) Inhibition of human cytomegalovirus IE gene expression by Dihydro- β -agarofuran sesquiterpenes isolated from *Euonymus* species. *In Vivo* **22**: 787-792.
- Tantry, M. A., Idris, A., and Khan, I. A. (2013) Glycosyl-sphingolipids from *Euonymus japonicus* Thunb. *Fitoterapia* **89**: 58-67.
- Ouyang, X.-L., Wei, L.-X., Fang, X.-M., Wang, H.-S., and Pan, Y.-M. (2013) Flavonoid constituents of *Euonymus fortunei*. *Chem. Nat. Compd.* **49**: 428-431.
- Lee, S. J. (1966) Korean Folk Medicine, 93. Publishing Center of Seoul National University, Seoul.
- Park, J. H. (2004) Medicinal Plants of Korea, 846. Shinil Books, Seoul.
- Lee, C. B. (1982) Coloured Flora of Korea, 517. Hyangmoonsa, Seoul.
- Park, J. H., Keon, D. K. and Do, W. I. (2006) Pharmacognostical Studies on the 'Jeob Gol Mog'. *Kor. J. Pharmacog.* **37**: 120-123.
- Park, J. H. and Do, W. I. (2007) Pharmacognostical Studies on the 'Ig Mo Cho'. *Kor. J. Pharmacog.* **38**: 148-151.
- Keon, S. J. and Park, J. H. (2008) Pharmacognostical Studies on the 'Ga Si O Gal Pi'. *Kor. J. Pharmacog.* **39**: 50-55.
- Esau K. (1982) Anatomy of Seed Plants, 265. John Wiley and Sons, New York.
- 猪野俊平 (1977) 植物組織學, 352. 内田老鶴園新社, 東京.
- 木島正夫 (1980) 植物形態學の實驗法, 117. 廣川書店, 東京.
- Fahn, A. (1982) Plant Anatomy, 134. Pergamon Press, Oxford.
- Andersen, O. M. and Markham, K. R. (2006) Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications, pp 16-20. CRC Press, Florida.
- Zhu, J.-X., Qin, J.-J., Chang, R.-J., Zeng, Q., Cheng, X.-R., Zhang, F., Jin, H.-Z., and Zhang, W.-D. (2012) Chemical constituents of plants from the genus *Euonymus*. *Chem. Biodivers.* **9**: 1055-1076.

(2013. 9. 13 접수; 2013. 10. 15 심사; 2013. 11. 25 게재확정)