

韓國傳統生藥의 藥理作用과 活性物質에 關한 研究

蛇莓의 항암 및 항균작용 활성물질

이인란 · 김영희 · 정광자

이화여자대학교 약학대학

(Received July 15, 1987)

Studies on the Pharmacological Actions and Biological Active Components of Korean Traditional Medicine

The Components of Antitumor and Antimicrobial Activity from *Duchesnea indica*

Ihn Rhan Lee, Young Hee Kim and Gwang Ja Jeong

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

Abstract—Antitumor and antimicrobial activities of water soluble fractions of *Duchesnea indica* (Andr.) and *Focke* (Rosaceae), have been studied.

The contents of total polysaccharide were 22% and its composition was identified by G.C.: L-arabinose (Rt. 7.71), D-xylose (Rt. 9.91), D-glucuronic acid (Rt. 12.77), D-fructose (Rt. 13.63), D-galactose (Rt. 14.68), D-glucose (Rt. 15.42). The antimicrobial activity of *Duchesnea indica* against four bacterial species, *S. aureus*, *S. paratyphi*, *S. dysenteriae* and *Ps. aeruginosa* was observed.

蛇莓 *Duchesnea indica* (Andr.) *Focke*,는 *Rosaceae*에 속하는 多年生 植物의 全草이며¹⁻³⁾, 우리나라, 中國 및 아시아 일부 지역에 分布되어 야생하고 있다. 뱀딸기의 生藥名은 蛇莓라고 불리우고 있으며⁴⁾, 學名은 *Duchesnea indica* (Andr.) *Focke*, *D. chrysantha*, *D. wallichiana* (Seringe) Nakai 등으로 表記되어 있고⁵⁾, *Fragaria indica* Andr.로 불리기도 한다.⁶⁾

蛇莓의 成分에 關한 研究로는 Mitsuhashi, Mukhjee 등이 지방산, sterol, triterpenoid 化合物 등을 分離 報告하였다.⁷⁻⁸⁾

1985年 李⁹⁾는 蛇莓의 ether可溶性 分획에서 sterol 化合物을 分離하여서 보고한 바 있다.

蛇莓의 藥效에 關하여서는 淸熱, 解毒, 消炎災, 止血, 抗腫瘤, 通月經作用이 있다하여 漢方에서 使用되어 왔으며¹⁰⁻¹⁴⁾, 民間에서는 胎熱, 齒痛에 使用하고 있다.¹⁵⁾

漢方醫藥大事典은 蛇莓에 대하여 동물실험 결과 抗腫瘤作用이 있으며, 포도상구균, 뇌막염구

균, 이질간균에 대해 억제작용이 있다고 하였다.¹⁵⁾

임상적으로는 白喉¹⁶⁾, 細菌性 痢疾¹⁷⁾, 急性穿孔性 闌尾炎¹⁸⁾에 치유효과가 있음이 알려져 있다.

또한 著者들은 蛇莓의 ether분획이 동물실험결과 estrogen效能作用 및 histamine效能作用을 나타냄을 報告한 바 있다.¹⁹⁾

前報에서 著者들은 蛇莓의 生理活性 研究의 일환으로서 蛇莓의 수용성 분획이 ICR mouse를 사용한 sarcoma 180 cell에 대한 항암실험에서 有意性 있는 결과를 얻어서 보고한 바 있다.²⁰⁾

따라서 著者들은 蛇莓의 항암성을 나타내는 분획의 본태를 밝히는 것이 시급한 문제로 사료되어 본 실험을 실시하였다.

또한 蛇莓의 항균성을 *S. aureus*, *S. paratyphi*, *S. dysenteriae*, *Ps. aeruginosa* 4균에 대하여 검토한 결과 有意性이 있음을 관찰하였다.

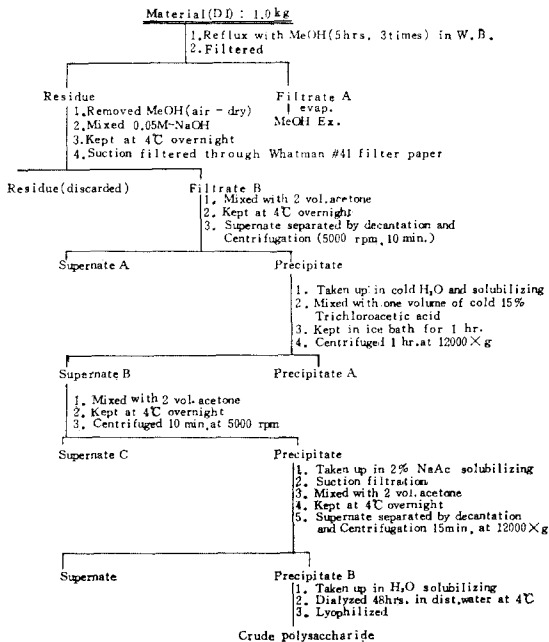
실험 방법

實驗材料—蛇莓, *Duchesnea indicae* Herba는 1986년 7~8월에 서울근교에서 채집하여 풍건한 후 실험재료로 하였다.

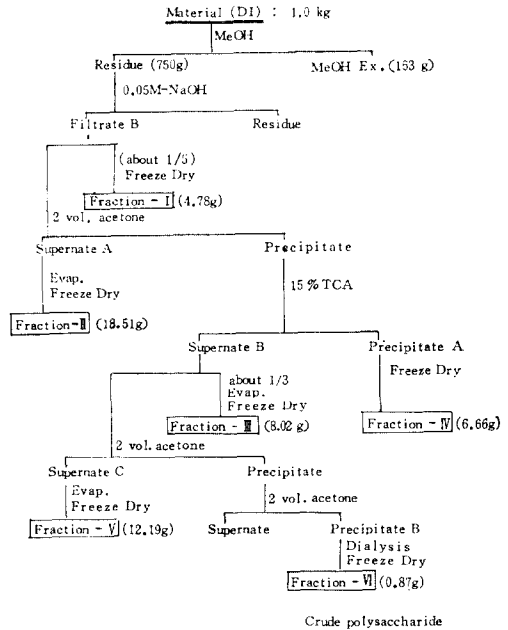
抽出 및 分離—풍건한 蛇莓 1kg을 MeOH로 수욕상에서 5시간 환류냉각하에서 추출한 후 MeOH fraction과 잔사를 분리하고 Scheme 1, 2와 같이 각각의 fraction을 分離하였다.

Polysaccharide의 정량—蛇莓의 polysaccharide 함량은 Anthrone법에 따라 실험한 후, standard sugar로서 glucose를 사용하여 실험한 후 UV spectrometer (Schimadzu UV-visible Recording Spectrophotometer UV-240)에 의해서 625nm에서 흡광도를 측정하여 당류함량을 검토하였다.

GC에 의한 단당류분석—L-Arabinose, D-fructose, D-glucose, D-xylose, inositol, D-galactose, mucic acid, D-mannose, D-glucuronic acid, L-rhamnose 등을 standard로 하여 蛇莓의 polysaccharide의 단당류조성을 GC에 의하여 검토하였다.



Scheme 1-Flow sheet for extraction procedure of water soluble polysaccharide from DI.



Scheme 2-Flow sheet for antimicrobial fractionation of DI.

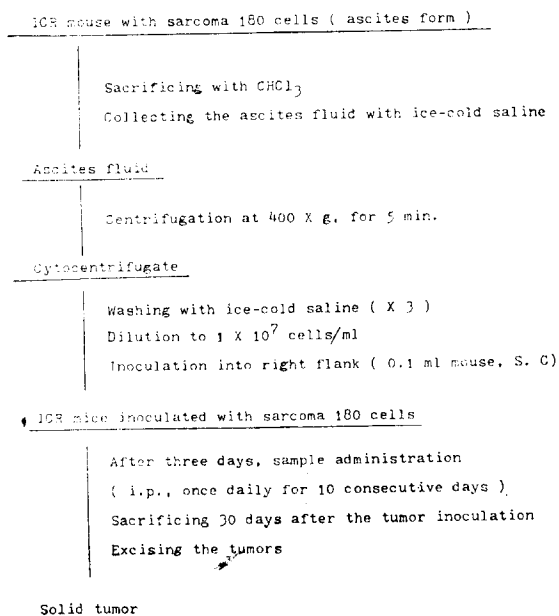
charide의 단당류조성을 GC에 의하여 검토하였다. 검체의 처리는 Scheme 4과 같이 하였고 GC의 조건은 Table I과 같다.

Table I-Running condition of GC

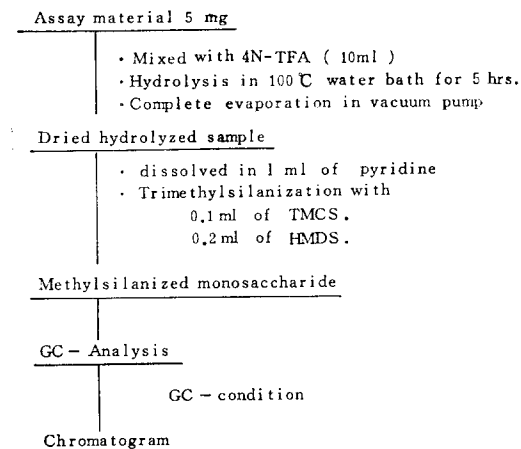
Column	SE-20 17m × 0.2mm
Temperature	column 130°C rate 30°C 180°C
	injector 250°C
	FID 300°C
Flow rate	nitrogen 0.96ml/min.
	H ₂ /Air 30ml/70ml
	Aux gas 25ml/min.
Split ratio	20 : 1
Sensitivity	attenuate 0
	range 5
Model	HP 5890

實驗動物—本 實驗에 使用한 動物은 서울대학교 動物사육장에서 구입한 20±2g의 웅성 ICR mouse를 使用하였다.

腫瘍細胞—ICR mouse 복강내에 sarcoma 180 細胞懸탁액 0.1ml (1×10⁷ cells/ml)을 이식하여



Schemo 3-Antitumor test procedure in vivo.



Scheme 4-Treatment of polysaccharide for the Gas chromatographic analysis.

일주간 계대배양하였다. 이 mouse를 해부하여 복수액 중의 sarcoma 180 암세포를 분리해낸 후 빙냉하에서 주사용 생리식염수로서 수회 세척하여 적혈구를 분리 제거하고 그 암세포를 희석하여 1×10^7 cells/ml가 되도록 암세포농도를 hemacytometer로 조절하였다.

實驗用液의 조제—蛇莓에서 얻은 crude polysaccharide fraction인 fraction-VI 200mg을 saline 10ml에 녹여서 검체로 사용하였고, 대조액은 saline을 使用하였다.

抗癌實驗—암을 이식하기 위하여 腹水癌액 0.1 ml (1×10^7 cells/ml)을 各 mouse의 왼쪽 겨드랑이에 주사하였다.

各 群은 10마리씩으로 하고 대조군과 검체군으로 나누었다.

암세포를 이식하고 3日 경과후 대조군은 saline을, 검체군은 100mg/kg 농도의 實驗액을 매일 1회씩 10회 주사하였다.

암이식 30일후 mouse를 치사시키고 固形癌을 적출해 평균무게를 구했다. (cheme 3).

사용균주—*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Salmonella paratyphi* 4종이며, 보존배지로는 trypton soya agar (Trypton 15.0g, soyapeptone 5.0g, sodium chloride 5.0g, agar No.3 15.0g)의 배지를 사용하였다.

균주배양—常法에 의하여 trypton soya agar slant에 사용균주 1 loop를 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 것을 종균으로 사용하였다.

실험용 균주의 조제—배양시킨 종균 1 loop를 10ml의 trypton soya broth (pancreatic digestic of casein 17.0g, papaic digest of soybean meal 3.0g, sodium chloride 5.0g, dibasic potassium phosphate 2.5g, dextrose 2.5g)에 현탁시켜서 24시간 incubator에서 배양한 다음, 이 균이 든 배양액 1ml를 취하여 생리식염수로 100배 희석하여 사용하였다.

항균실험방법—蛇莓의 항균력은 직경이 9cm인 petri dish를 사용하여 한천평판도말법을 이용하여 측정하였다.

항균실험용 분획 F-I, F-II, F-III, F-V, F-VI의 최종농도가 1mg/ml가 되도록 멸균증류수에 녹여서 18ml의 trypton soya agar배지에 무균적으로 혼합하고 4개의 균주를 각각 도말접종하였다. 4개의 균주를 이식한 것을 37°C에서 24시간 배양하여서 세균의 생육도를 관찰하였고, MIC를 결정하기 위하여 농도를 2.5, 5.0, 7.5,

10.0, 12.5mg/ml로 하여 同一方法으로 관찰하고, F-VI의 항균력을 측정하기 위해서 농도를 50mg/ml로 하여서 관찰하였다.

실험결과 및 고찰

蛇莓의 총 polysaccharide의 정량—Glucose 표준품으로 부터 표준검량곡선을 작성하였고, $y=9.4922x+0.0202(r=0.9974)$ 를 얻었으며 이와 비교 정량을 하기위해 사매의 polysaccharide를 0.1mg/ml를 취하여 정량한 결과, 표준검량선에 의하여 0.002199mg을 얻었고, 전체 polysaccharide는 21.99%를 함유함을 알았다.

Gas chromatography에 의한 단당류 분석—표준품 L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-xylose, inositol, D-galactose, mucic acid, D-mannose, D-glucuronic acid, L-rhamnose를 GC에 의해 분석한 결과, retention time은 Table II과 같이 나타났다. Table II에서 보는 바와 같이 Rt 7.71에서 L-arabinose, Rt 9.91에서 D-xylose, Rt 12.77에서 D-glucuronic acid, Rt 13.63에서 D-fructose, Rt 14.68에서 D-galactose Rt. 15.42에서 D-glucose로 추정되는 peak들이 나타났고, inositol, mucic acid, D-mannose, L-rhamnose의 Rt.과 일치하는 peak가 나오지 않은 것으로 미루어서 이들 4개의 단당류는 蛇莓의 polysaccharide의 구성단당류가 아닌 것으로 사료된다(Table III).

따라서 蛇莓의 polysaccharide의 조성은 그 일부가 L-arabinose, D-xylose, D-glucuronic acid, D-fructose, D-galactose, D-glucose로 이루어졌음을 시사해 준다.

Table II—Gas chromatographic result of standard monosaccharide.

Monosaccharide	Retention time(min.)
L-Arabinose	7.78
L-Rhamnose	8.11
D-Xylose	9.97
D-Glucuronic acid	12.72
D-Mannose	13.21
D-Fructose	13.60
D-Galactose	14.62
D-Glucose	15.52
Mucic acid	20.74
Inositol	23.14

Table III—Gas chromatographic result of decomposed monosaccharide from polysaccharide fraction.

Retention time (min.)	Area	Identified monosaccharides
7.61	28480	
7.71	75616	D-Arabinose
9.91	36586	D-Xylose
11.48	51521	
12.77	22330	D-Glucuronic acid
13.63	21897	D-Fructose
14.68	146590	D-Galactose
15.42	24574	D-Glucose

항암실험—蛇莓의 crude polysaccharide 분획인 Fr. VI을 sarcoma 180 cell을 이식한 mouse에 주사하였을 때, 대조군에 비하여 높은 항암활성을 나타내었다. 이 결과는 100mg/kg가 31.9%, 200mg/kg가 63.0%로 나타났다.

항균실험—사매의 각 분획 F-I, F-II, F-III,

Table IV—The antimicrobial activity of water soluble fraction.

Strains	Fraction					
	Control	F-I	F-II	F-III	F-V	F-VI
<i>S. aureus</i>	—	++	++	++	++	—
<i>S. paratyphi</i>	—	+	+	+	++	—
<i>Ps. aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	—
<i>S. dysenteriae</i>	—	++	++	++	++	—

Medium : Trypton soya agar — : negative + : weak positive ++ : positive +++ : strong positive

Table V—MIC of fractions on DI

Strains	MIC (mg/ml)			
	Fr. I	Fr. II	Fr. III	Fr. V
<i>S. aureus</i>	7.5 < MIC ≤ 10.0	7.5 < MIC ≤ 10.0	10.0 < MIC ≤ 12.5	5.0 < MIC ≤ 7.5
<i>S. paratyphi</i>	10.0 < MIC ≤ 12.5	10.0 < MIC ≤ 12.5	12.5 < MIC ≤ 15.0	5.0 < MIC ≤ 7.5
<i>S. dysenteriae</i>	5.0 < MIC ≤ 7.5	5.0 < MIC ≤ 7.5	7.5 < MIC ≤ 10.0	2.5 < MIC ≤ 5.0

F-V, F-Ⅵ이 *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa* 4균주에 대하여 생육억제작용을 관찰한 결과는 Table IV과 같다.

Table IV에서 보는 바와 같이 蛇莓의 F-I, F-II, F-III fraction은 *S. aureus*, *S. dysenteriae*에 Positive 결과를 나타냄으로서 이들 3 fraction은 2균주의 생육을 억제함을 알 수 있고, 또 이 3 fraction은 *S. paratyphi*에 대해서도 약한 positive반응을 나타낸 것으로 미루어 이 균의 발육도 억제함을 알 수 있다. 그러나 이 3 fraction 모두 *Ps. aeruginosa*에 대해서는 negative를 나타냄으로서 이 균에 대해서는 억제하지 못함을 나타낸다. 또 사매의 F-V분획은 *S. dysenteriae*에 강한 positive를 나타내었고, *S. aureus*, *S. paratyphi*에 대해서도 positive 결과를 나타내어서 이들 3균의 성장을 억제함을 알 수 있다. F-I, F-II, F-III와 마찬가지로 F-V도 *Ps. aeruginosa*에 대해서는 억제하지 않음을 알 수 있다. 사매의 polysaccharide분획인 F-Ⅵ의 항균력을 관찰하기 위해 50.0mg/ml로 농도를 높여 관찰한 결과에서도 4균주에 대하여 억제작용을 나타내지 않았다. MIC를 측정하기 위하여 검체의 농도를 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0mg/ml의 농도로 하여서 항균력을 검토한 결과는 Table V와 같다(Table V).

사매의 항균실험결과에서 수용성 분획과 수용부중 acetone가용성 분획에서 *S. aureus*, *S. paratyphi*, *S. dysenteriae*에 대해 생육억제작용을 나타내었다.

또 문헌에서 瘡腫, 外科瘡瘍에 효과가 있다고 하였으나, 이들 병원성을 일으키는 1차 침입균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서는 억제하지 못함을 알았다.

또한 이 실험에서, 古來로 부터 漢方에서 靑 황색포도상구균, 이질간균, Typhus균에 대해 사매가 억제작용이 있음을 본 실험에서 실험적으로 확인하였다.

결론

蛇莓 *Duchesnea indica* (Andr.) Focke (*Rosaceae*)의 全草의 수용성 분획중에 함유된 ICR mice에 이식한 sarcoma 180 cell에 대하여 항종양활성을 나타내는 분획을 검토한 결과 polysaccharide가 함유되었음을 확인하였다.

이 polysaccharide의 함량은 21.99%이었다. 또 항암활성을 나타낸 polysaccharide의 일부구성 성분은 gas chromatography에 의하여 L-arabinose (Rt. 7.71), D-xylose (Rt. 9.91), D-glucuronic acid (Rt. 12.77), D-fructose (Rt. 13.63), D-galactose (Rt. 14.68), D-glucose (Rt. 15.42)의 6가지의 단당류로 이루어졌음을 알았다.

한편 蛇莓의 항균력을 검토한 결과 수용성 분획(F-I)과 아세톤 가용성 분획(F-II, F-III, F-V)에서 항암작용 및 *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi*에 대하여 강한 항균작용이 있음을 확인하였다.

감사의 말씀—이 논문은 문교부 학술연구조성비지원에 의하여 이루어졌음을 밝히며 이에 감사드리는 바입니다.

문헌

1. 이창복 '대한식물도감, 향문사, 432 (1982)
2. 村越三千男, 原色植物大圖鑑, 誠文堂新光社, 267 (1958)
3. 한국과학기술연구소, 국내에 야생하는 특용식물자

- 원(주로 약용식물)의 이용을 위한 연구, 1차년도 조사, 521 (1979)
4. 문교부, 한국동식물도감, 삼화출판사, 서울, 5, 515 (1965)
 5. 정태현, 한국식물도감, 서울신지사, 서울, (1956)
 6. 대만식물지, 대만식물지편집위원회, 대만, 63 (1977)
 7. Mitsunashi, Totsuo, Shibuya Yuichi. Endo. Setsuko, compositions of the Seed Oils from the New Summer Orange, *Viburnum phlebotrimum*, *Viburnum dilatatum*, *Rubus provifolius* and *Duchesnea indica*. Tokyo Gakugei Daigaku Kiyo 23, 77 (1971)
 8. Mukjee, K.S., Bhattacharya, M.K.: Phytochemical Investigations of *Aesculus indica* L. and *Fragaria indica* Andr., *J. Indian Chem. Soc.*, LX, 507 (1985)
 9. Ihn Rhan Lee: Studies on Pharmacological Active Constituents of *Duchesnea indicae* Herba, *J. Kor. Research Institute for Better Living* 35, 129 (1985)
 10. 白井光太郎, 鈴木眞海譯, 頭註 國譯本草綱目草部, 第六冊, 春陽堂, 東京, 175 (1931)
 11. 赤松金芳, 新訂 和漢藥, 醫齒藥出版, 東京, 378 (1970)
 12. 中藥大辭典, 江蘇新醫學院(編), 2116 (1978)
 13. 中醫病方治手, *Chinese Medical plant*, 877 (1974)
 14. 陳在仁, 圖說 漢方醫藥大事典, 第四卷, 講談社, 東京, 232 (1981)
 15. Sun Ju Lee: *Korean Folk Medicine, monographs series*, No. 3, 동명사, 서울, 68 (1970)
 16. 全展送編, 傳染病, 第二分冊, 11 (1970)
 17. 南通醫學院附屬醫院, 醫療教學參考資料, 17 (1972)
 18. 新醫藥學染志 2, 24 (1975)
 19. Ihn Rhan Lee: Biologically Active Components of *Duchesnea indicae* Herba, *Kor. J. of Pharmacognosy* 15, 2 (1984)
 20. Ihn Rhan Lee and Young Hee Kim: Studies on the Antitumor Activity of *Duchesnea indica* Herba, *Arch. Pharm. Res. Res.* 9, 1 (1986)