

한국 특산 생약의 약효성분 및 약리활성

—*Fraxinus* spp.의 약효 성분—

김 일 혁* · 김 창 종* · 육 창 수

*중앙대학교 약학대학 · 경희대학교 약학대학

The Chemical Constituents and Their Pharmacological Activities of Endemic Medicinal Plants in Korea

—Pharmacologically Active Constituents of *Fraxinus* Species—

Il Hyuk Kim*, Chang Johng Kim* and Chang Soo Yook

*College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756 and

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract—Three components, fraxetin-8-glucoside, esculetin-6-glucoside and man-
nitol, were isolated from the stem bark of *Fraxinus chiisanensis* var. *stenophylla*, *F.*
japonica var. *intermedia* and *F. densata*. The MeOH extract of the cortex of *F.*
densata had the antiinflammatory activity on the carrageenin-induced paw edema in
rat. The MeOH extracts of the cortex of all three *Fraxinus* spp. have the potent
analgesic activity on the HOAc-induced writhing syndrome in mouse and the hepato-
protective activity on the CCl₄-induced fatty liver in rat: protection of ballooning
formation and inhibition of sGPT and sGOT increased by CCl₄.

Keywords—*Fraxinus chiisanensis* var. *stenophylla* · *F. japonica* var. *intermedia* ·
F. densata · antiinflammation · hepatoprotection · esculetin-6-glucoside · fraxetin-8-
glucoside · mannitol · analgesic activity

진피(秦皮, Fraxini Cortex)는 신농본초경(神農本草經)의 중품(中品)에 수재되어 있는 생약으로, 물푸레나무과(Oleaceae)에 속하며 우리나라에는 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)를 비롯하여 동속약품의 수피(樹皮)를 건조, 생약으로 만들어 약용하고 본초강목(本草綱目)에는 미고(味苦), 미한(微寒)으로 주치(主治)는 풍한습비(風寒濕痺), 세세한기(洗洗寒氣), 제열(除熱), 목중청예백막(目中靑翳白膜), 구복경신(久服輕身), 요남자소정(療男子小精), 명목(明目), 적안생예(赤眼生翳) 등으로 기재되어 있다.^{1~4)} 최근에 진피는 주로 통풍(痛風), 이뇨약, 관절염, 근육통, 신경통, 장염, 해열, 유행성감기 등

에 상용되고 있다.

한편, 우리나라 동의보감(東醫寶鑑)에도 '성한(性寒), 미고(味苦), 무독하고 간열(肝熱)하고, 두눈이 적종(赤腫)하고 동통하며, 풍루(風淚)가 그치지 않는 것을 다스리고, 청예(靑翳)와 백막을 제거하고, 풍열습비(風熱濕痺), 세적목(洗赤目), 열리(熱痢)를 다스리고, 부인의 대하와 소하의 감열(疳熱)을 다스린다고 기록되어 있다.⁵⁾ 이와같이 한방에서 중요한 약재로 사용되고 있는 우리나라 진피의 약품식물로서는 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)를 비롯하여 10여종의 약품식물이 전국각지에 풍부하게 자생하고 있으며 특히 우리나라 특산 물푸레나무로는 광

풍물푸레나무(*Fraxinus densata*), 긴잎물푸레들매나무(*F. chiisanensis* var. *stenophylla*) 및 긴잎물푸레나무(*F. japonica* var. *intermedia*)가 유명하다.

그러나 이들 물푸레나무속 약품식물들은 esculin, fraxin 등 coumarin 약효성분의 자원으로써 부가가치가 높은 생약임에도 불구하고 우리나라에서는 단편적인 성분연구가 있을뿐 특히 3종의 특산식물에 대한 천연물 약품화학적 연구가 없음을 착안하여 본 연구는 먼저 상기 3종의 특산물푸레나무의 수피를 재탐지하고 이어 3종 특산약품식물의 수피의 MeOH 엑스를 제조, 일반 천연물 약품화학적 접근으로 그 약효성분을 분리, 기기분석(UV, IR, NMR, Mass 등)을 통하여 그 화학구조를 구명, 신약자원으로의 유도를 시도 하였다.⁶⁻¹²⁾

실험 방법

1. 생리활성 검색

항염작용—Winter법에 따라 Sprague-Dawley 계 rat(체중 180±20 g) 6마리를 1군으로 하여 광릉물푸레나무(*Fraxinus densata*), 긴잎물푸레들매나무(*F. chiisanensis* var. *stenophylla*) 및 긴잎물푸레나무(*F. japonica* var. *intermedia*) 수피의 MeOH엑스 200 mg/kg을 각각 경구투여 한 후 1시간 후 1% carrageenin 생리식염액 0.1 ml를 흰쥐의 우측 후지족척에 피하주사하여 부종을 유발시킨 후 4시간동안 매시간 마다 용적법에 따라 족부종을 측정하여 부종률을 산출하였다.

진통작용—Whittle법에 따라 ICR계 mouse(체중 20±2 g) 10마리를 1군으로하여 상기 3종의 물푸레수피 MeOH엑스 200 mg/kg을 경구투여하고 난 1시간후에 0.7% acetic acid 생리식염수액 0.1 ml/10 g을 복강주사하고 10분후부터 10분간에 나타내는 writhing syndrome의 횡수를 통각지표로 하여 진통작용을 실험하였다.

간 보호작용—Sprague-Dawley계 rat(체중 180±20 g) 6마리를 1군으로 하여 CCl₄-olive oil 혼합액(1:1)를 4 ml/kg씩 1일 1회 4일간 주사부위를 바꾸어가면서 근육주사하여 간지방변성을 유

발시키고 정상군에서는 olive oil 4 mg/kg을 같은 방법으로 근육주사하였다. 실험군은 상기 3종의 물푸레나무 수피 MeOH엑스 200 mg/kg을 각각 1일 1회 5일간 경구투여하고 6일째 두부를 강타하여 급사시킨 후 회복하여 하대정맥에서 채혈, Reitman-Frankel법에 따라 s-GOT, s-GPT 활성을 측정하였다.

이어 간을 적출하여 평량하고, 10% 중성 formalin에 고정된 후 통상적인 방법에 따라 조직표본을 제작하고 hematoxylin-eosin 중복염색으로 조직병리학적 간경변을 관찰하였다.

2. 약효성분의 추출 및 분리

재료—본 실험에서 사용한 실험재료 광릉물푸레나무(*Fraxinus densata*), 긴잎물푸레들매나무(*F. chiisanensis* var. *stenophylla*) 및 긴잎물푸레나무(*F. japonica* var. *intermedia*)는 1991년 3월~8월에 걸쳐 각각 광릉, 지리산 및 진도에서 채집 음건 후 세절하여 사용하였다.

실험기기—용점을 electrothermal digital melting point apparatus를 사용하였고, ¹³C-NMR spectra는 Jeol GX 400 spectrometer, IR spectra는 Perkin Elmer infrared spectrophotometer (U.S.A.), ¹H-NMR은 Varian AM 200 및 300, MS는 Hewlett Packard 5985B 등을 사용하였다.

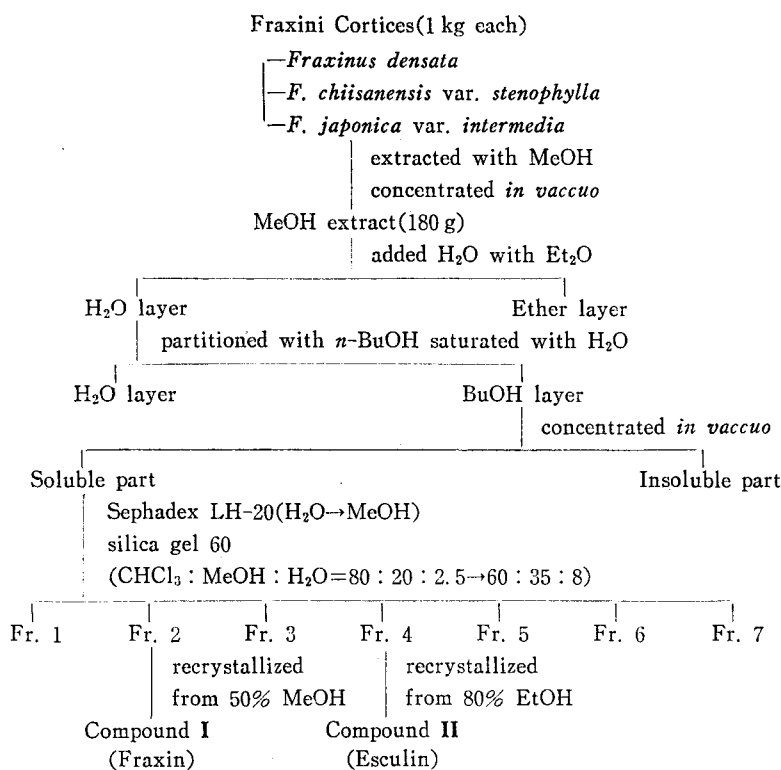
추출 및 분리—3종의 재료 1 kg을 MeOH 6 l로 수욕상에서 3회 반복 추출하고 추출액을 감압농축하여 암갈색의 MeOH엑스 180 g을 얻었다. 여기에 증류수 2 l를 넣고 수욕상에서 진탕한 후 냉시 여과하여 얻은 여액을 ether 3 l씩 3회 반복 추출한 후 Scheme I에 따라 처리하여 광릉물푸레나무, 긴잎물푸레들매나무 및 긴잎물푸레나무에서 각각 compound II(fraxin) 1.2 g, 1.05 g, 0.80 g, compound II(esculin) 3.4 g, 3.01 g, 2.92 g을 얻었다(Scheme I).

Compound I(fraxin, 7,8-dihydroxy-6-methoxy coumarin-8-β-glucoside)—Scheme I에서 단리된 물질 I을 50% MeOH로 재결정하고 진공 건조한 바 mp 204~205°C이며 微黄色의 針狀結晶이었다.

mp 204~205°

mol. wt.: 370

Anal. Calcd for C₁₆H₁₈O₁₀: C, 51.80; H, 4.85;



Scheme I. Extraction and isolation of compounds I and II

Found: C, 50.92; H, 4.80

UV, λ_{\max} (MeOH) nm 344(0.35), 267(0.06), 227(0.50); IR, ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 3440(OH), 2920(CH), 1700(C=O), 1680, 1660, 1560(aromatic C=C), 1370, 1380(OCH₃), 1160(C-O); ¹H-NMR(CD₃OD, 300MHz, TMS) δ : 3.89(3H, s, OCH₃), 6.26(1H, d, *J*=9.4Hz, H-3), 7.69(1H, d, *J*=9.6Hz, H-4), 6.98(1H, s, H-5), 4.99, 3.76(glucose proton).

물질 I은 염화제 2철 용액에 의하여 녹색을 띠며 점차로 황변하였고 좁쌀물푸레나무 근피에서 단리한 표품 fraxin(fraxetin-8-glucoside)와 혼용시험한바 강하가 없었다.

물질 I의 分解—물질 I 0.2 g을 5% H₂SO₄를 가하여 수욕상에서 加溫하고 冷時에 析出한 粗結晶을 취하여 50% MeOH로 2회 재결정한 바 mp 227°C이며 인편상의 결정이었고 이 aglycone 은 표품 fraxetin과 혼용하여 그 강하가 없었다.

TLC, Rf: 0.78(CHCl₃-MeOH-AcOH=10 : 2 : 1) UV, λ_{\max} (MeOH) nm 270(0.066), 339

(0.734); IR, ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 3410(OH), 2956(CH), 1690(C=O), 1620, 1580, 1530(C=C), 1140(C=O); ¹H-NMR(CD₃OD, 300MHz, TMS) δ : 6.16(1H, d, *J*=9.8Hz, H-3), 7.84(1H, d, *J*=9.8Hz, H-4), 6.74(1H, s, H-5), 9.42(broad OH), 3.87(3H, s, OCH₃)

Diacetylfraxetin—위에서 얻은 aglycone을 상법에 의하여 acetic anhydride 5 ml, sodium acetate 0.2 g을 直火에서 가열하고 冷時에 氷水에 가하여 析출하는 결정을 MeOH로 재결정한 바 mp 193~194°C로 문헌의 diacetylfraxetin과 一致하였다.

Compound II(esculin, 6,7-dihydroxy-6- β -glucoside)—Scheme I에서 단리한 물질 II의 粗結晶을 80% EtOH로 재결정하고 진공 건조시킨 바 mp 205°C이며 백색의 粉末狀 細針晶을 얻었다.

mp 205~206°

mol. wt.: 340

Anal. Calcd for C₁₅H₁₆O₉: C, 53.07; H, 4.68;

Found: C, 52.98; H, 4.75; UV, λ_{\max} (MeOH) nm 221(0.51), 267(0.10), 336(0.43); IR, ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3380~3480(OH), 2920(CH), 1700(C=O), 1690, 1620, 1580, 1560(aromatic C=C), 1140(C-O); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300MHz, TMS) δ : 6.22(1H, d, $J=9.4\text{Hz}$, H-3), 7.85(1H, d, $J=9.4\text{Hz}$, H-4), 6.80(1H, s, H-5), 7.43(1H, s, H-8), 4.89, 3.50(glucose proton).

물질 II를 시험관에 넣고 HNO_3 1적을 가한 바 선황색으로 용해하였다(단 fraxin 배당체는 등색이다).

물질 II는 일본산 물푸레나무에서 분리한 esculetin과 혼용시험한 바 용접강하가 없었다.

물질 II의 分解: 물질 II 0.2 g에 5% H_2SO_4 을 가하고 수욕상에서 加水分解한 후 에틸로 抽出하여 留去시킨다음 50% MeOH로 재결정한 바 mp 267°C이었다. 이 aglycone은 표품 esculetin과 혼용에서 그 강하가 없었고, TLC에서도 그 Rf값이 일치하였다.

TLC, Rf: 0.95(CHCl_3 -MeOH-AcOH=10:2:1); UV, λ_{\max} (MeOH) nm 229(2.22), 257(0.79), 299(0.94), 348(1.90); IR, ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3390(OH), 1680(C=O), 1620, 1580, 1520(aromatic C=C), 1170(C-O); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 300MHz, TMS) δ : 6.13(1H, d, $J=9.3\text{Hz}$, H-3), 7.83(1H, d, $J=9.3\text{Hz}$, H-4), 6.71(1H, s, H-5), 6.95(1H, s, H-8), 9.29(1H, broad, C_6 -OH), 10.12(1H, broad, C_7 -OH).

Table I. $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data of coumarins in CDCl_3

Carbon	Compound			
	Fraxin (I)	Esculin (II)	Fraxetin	Esculetin
C-2	160.03	160.33	160.32	160.59
C-3	112.20	112.02	111.67	111.35
C-4	143.71	142.65	144.81	144.22
C-5	110.16	110.75	111.67	112.01
C-6	144.61	144.32	145.27	148.42
C-7	142.64	142.65	142.83	142.74
C-8	104.03	103.08	102.65	102.51
C-9	145.41	145.02	150.10	150.27
C-10	110.16	110.75	110.10	110.63
Glc-1	105.17	105.01		
Glc-2	73.79	73.20		
Glc-3	77.27	77.33		
Glc-4	69.62	69.75		
Glc-5	76.20	75.89		
Glc-6	60.81	60.76		

Diacetylesculetin: 위에서 얻은 aglycone를 상법에 의하여 acetic anhydride, sodium acetate로 acetylation하여 mp 133°C의 無色針狀結晶을 얻었으며 水溶液은 螢光을 나타내고 용질은 문헌의 diacetylesculetin과 一致하였다.

Mannitol의 단리: Scheme I의 분리과정의 MeOH엑스에서 얻은 조결정성 물질을 90% MeOH로 재결정하여 mp 165°C인 백색결정을 얻었고 상법에 의한 acetylation에 의하여 mp 123°C

Table II. Anti-inflammatory activities of Fraxini Cortices extracts on the carrageenin-induced paw edema in rat

Bark extract ¹⁾ (MeOH)	Dose (mg/kg, p.o.)	Swelling(%) ²⁾			
		1	2	3	4(hrs)
Control	—	26.31±2.15	44.79±5.78	58.34±6.50	73.30±7.51
<i>Fraxinus densata</i>	200	15.37±2.13**	23.50±6.68**	26.74±4.62**	32.36±5.46**
<i>F. chiisanensis</i> var. <i>stenophylla</i>	200	20.58±2.70	24.88±3.38*	28.75±6.93*	33.70±6.96**
<i>F. japonica</i> var. <i>intermedia</i>	200	20.05±5.16	28.05±5.30*	32.50±4.90*	38.82±4.12**
Aspirin	100	9.40±4.60**	23.96±9.70**	24.00±6.08**	28.86±6.00**

1) Extracts were orally administered 1hr before 1% carrageenin injection(0.1ml/rat, s.c.).

2) Paw edema was measured every time 1hr after carrageenin injection.

Each value represented the mean±S.E.

Significantly different from control(*p<0.05, **p<0.01)

Table III. Analgesic activities of Fraxini Cortices extracts on the HOAc-induced writhing syndrome in mice

Bark extract ¹⁾ (MeOH)	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of writhing syndrome ²⁾ for 10 min	Inhibition(%)
Control	—	27.40±1.97	—
<i>Fraxinus densata</i>	200	12.40±3.22**	54.75
<i>F. chiisanensis</i> var. <i>stenophylla</i>	200	15.20±2.60**	44.53
<i>F. japonica</i> var. <i>intermedia</i>	200	14.60±3.14**	46.72
Aminopyrine	50	12.00±2.65**	56.20

1) Extracts were orally administered 1hr before the i.p. injection of 0.7% HOAc solution at a dose of 0.1 ml/10 g.

2) No. of writhing syndrome was counted 10 minutes after injection of HOAc. Each value represented the mean±S.E.

Significantly different from control(*p<0.05, **p<0.01).

Table IV. Hepatoprotective activity of Fraxini Cortices extracts on the CCl₄-induced fatty liver in rat

Bark extract ¹⁾ (MeOH)	Dose (mg/kg, p.o.)	Enzyme activity (Reitman-Frankel units)	
		s-GPT	s-GOT
Control	—	146.83±9.99	208.00±9.78
<i>Fraxinus densata</i>	200	39.00±4.00**	139.67±15.33*
<i>F. chiisanensis</i> var. <i>stenophylla</i>	200	59.75±15.63**	124.75±26.35*
<i>F. japonica</i> var. <i>intermedia</i>	200	65.00±20.74*	147.00±24.61*
Silymarin	100	35.00±17.56**	70.33±33.57*

1) Extracts were orally administered for 5 days after CCl₄ intoxication at a i.m. dose 4 mg/kg daily 4 days.

Each value represented the mean±S.E.

Significantly different from control(*p<0.05, **p<0.01).

의 결정성물질을 얻었다. 광릉물푸레나무 수피에서 얻은 mannitol의 표품과 혼용시험에서 용점강하가 없었다.

고찰 및 결과

우리나라 진피(秦皮)의 기원식물인 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)를 비롯한 광릉물푸레나무(*Fraxinus densata*), 긴잎물푸레나무(*F. chiisanensis* var. *stenophylla*) 및 긴잎물푸레나무(*F. japonica* var. *intermedia*)의 수피에서 신약개발을 위한 기초적 연구의 일환으로 항염작용, 진통작용 및 간보호작용 등의 생리활성 검사를 통해서 유의성있는 결과를 얻고 이어 천연물약품화학적 접근으로 상기 3종의 특산식물 수피에서 compound I(fraxin, C₁₆H₁₈O₁₀, mp 204~205°)

와, compound II(esculin, C₁₅H₁₆O₉, mp 205~206°)를 높은 수득량으로 각각 1.20 g, 1.05 g, 0.80 g 및 3.40 g, 3.01 g, 2.92 g을 얻었다(Fig. 1).

먼저 생리활성 검색에서 Winter법에 따라 carrageenin염증 유발부종에서 특히 광릉물푸레나무 수피 MeOH엑스 200 mg/kg이 가장 강한 항염작용을 나타냈으며 긴잎물푸레나무, 긴잎물푸레나무 수피 MeOH엑스 200 mg/kg도 유의성 있는 항염작용을 나타냈으며(Table II) Whittle법에 따라 상기 3종의 MeOH엑스 200 mg/kg에서 초산 유발 writhing syndrome이 유의성 있게 억제되어 진통작용이 있음을 알 수 있었다(Table III). 또, CCl₄유발 지방간 흰쥐의 혈중 transaminase를 모두 유의성있게 억제함으로써 간보호작용이 있었다.

한편 조직병리학적 소견을 보면 3종의 특산

물푸레나무의 수피의 MeOH엑스 200 mg/kg 투여 군에서 CCl₄에 의한 간 중심정맥의 간실질세포에 일어난 ballooning형성이 억제되었다(Table IV).

결 론

국내에 자원이 풍부한 긴잎지리산물푸레 *Fraxinus chiisanensis* var. *stenophylla* Nakai, 긴잎물푸레나무 *Fraxinus japonica* var. *intermedia* Hara, 광릉물푸레나무 *Fraxinus densata* 수피를 알콜로 추출, column chromatography법 등에 의하여 분리된 compound I, II를 기기분석한 결과 다음과 같은 coumarin glucoside를 구명하였다.

1) Compound I은 mp 204~205°C인 미황색 결정으로 C₁₆H₁₈O₁₀의 분자식을 갖는 fraxin(fraxetin-8-glucoside) 배당체이다.

2) Compound II는 mp 206°C로 백색결정 C₁₅H₁₆O₉의 분자식을 갖는 esculin(esculetin-6-glucoside)이며 *Fraxinus* 속 식물의 주성분이다.

3) 알콜 추출물에서 얻은 결정성물질은 mp 165°C의 백색결정으로 mannitol으로 확인하였다.

4) 생리활성 검색에서 윈터법에 따라 carrageenin염증 유발부종에서 특히 광릉물푸레나무 수피 MeOH엑스 200 mg/kg이 가장 강한 항염작용을 나타냈으며, 긴잎지리산물푸레나무, 긴잎물푸레나무 수피 MeOH엑스 200 mg/kg도 유의성 있는 항염작용을 나타냈으며, 위틀법에 따라 상기 3종의 MeOH엑스 200 mg/kg에서 초산 유

발 writhing syndrome이 유의성 있게 억제되어 진통작용이 있음을 알 수 있었다. 또, CCl₄ 유발 지방간 흰쥐의 혈중 transaminase를 모두 유의성 있게 억제함으로써 간보호작용이 있었다.

한편 조직병리학적 소견을 보면 3종의 특산물 푸레나무의 수피의 MeOH엑스 200 mg/kg 투여 군에서 CCl₄에 의한 간 중심정맥의 간실질세포에 일어난 ballooning 형성이 억제되었다.

〈1993년 6월 15일 접수 : 7월 2일 수리〉

참 고 문 헌

1. 옥창수, 남준영, 유기옥, 심재호 : 한약학 II, 광명의학사, pp. 474~479(1992).
2. 정태현 : 한국식물도감(목본편), 신지사, pp. 430~432(1957).
3. 이시진 : 본초강목, 고문사, p. 1151(1970).
4. 옥창수 : 한국약품식물자원도감, 진명출판사, p. 310(1981).
5. 허준 : 동의보감(국역판), 남산당, p. 715(1970).
6. Ijda, G.: *Tohoku J. Exptl. Med.* 25, 455(1935).
7. Shimata, I.: 약학잡지 60, 508(1940).
8. 한덕용 : *Kor. J. Pharmacogn.* 7, 195(1976).
9. Nakaya, S.: *Tohoku J. Exptl. Med.* 18, 224(1966).
10. Nakaya, S. and Itoh, T.: *Tohoku J. Exptl. Med.* 18, 230(1966).
11. 옥창수 : *Kor. J. Pharmacogn.* 12, 143(1981).
12. 옥창수, 김대식, 김성만 : 약학회지 28, 283(1984).