

삼백초의 진통성분

박시경* · 오갑진 · 김현태 · 김현중 · 정순간 · 조의환
삼진제약(주) 중앙연구소
(Received March 26, 1998)

Analgesic Constituent from the Herba of *Saururus chinensis* (L_{OUR.})B_{AILL.}

Si-Kyung Park*, Gab-Jin Oh, Hyun-Tae Kim, Hyun-Jong Kim,
Sun-Gan Chung and Eui-Hwan Cho
Central Research Institute, Samjin pharmaceutical Co.,LTD.,
Hwasung Gun, Kyunggi Do, 445-920 Korea

Abstract—For the investigation of bioactive natural products with analgesic activity, we have evaluated various extracts of Saururi Herba (Saururaceae), which has been used in traditional medicine for edema, beriberi, jaundice, turbid urine, carbuncle and furuncle. The diethylether extract of this plant was found to show a significant analgesic effect on writhing syndrome in mice. Using bioactivity-guided separation of the diethylether extract, analgesic constituent, (8S, 8'R, 7R, 6'R)-2'-oxo-4, 5:4', 5'-bis(methylenedioxy)- $\Delta^{1,3,5,3'}$ -8,8', 7,6', 2.O.5'-neolignan(sauchinone) was isolated and structurally identified by physico-chemical properties and spectroscopic evidences. This compound has good analgesic activity with lower toxicity, as compared to other antipyretic-analgesic drug(acetaminophen).

Keywords □ *Saururus chinensis* (L_{OUR.})B_{AILL.}, Saururaceae, analgesic effect, (8S, 8'R, 7R, 6'R)-2'-oxo-4, 5:4', 5'-bis(methylenedioxy)- $\Delta^{1,3,5,3'}$ -8,8', 7,6', 2.O.5'-neolignan (sauchinone), lignan.

삼백초 *Saururus chinensis* (L_{OUR.})B_{AILL.}는 삼백초과 (Saururaceae)에 속하는 다년초로서 고래로부터 다양한 약효를 가지고 민간약으로 널리 사용되어 왔다.¹⁻⁴⁾ 저자들은 전보⁵⁾에서 항암 활성 검색을 통하여 세포독성 물질을 본 식물로부터 분리 보고한 바 있다. 본 연구에서는 국내 천연자원으로 부터 새로운 진통 성분을 개발하기 위하여 여러 종류의 약용 식물들을 중심으로 약효검색을 실시하였다. 검색된 식물자원들 중에서 삼백초 전초의 추출물이 유의성 있는 진통활성을 나타내었으며 이에 대한 약효 성분 연구를 시도하였다. 먼저 이 추출물을 극성에 따라 순차적인 용매 분획을 실시하여 Et₂O, BuOH 및 H₂O의 분획물을 얻었고 이 분획물들에 대한 약효 검색결과 Et₂O 엑스에서 강한 활성을 관

찰하였다. 따라서 이 엑스를 진통활성에 따른 용매 분획과 실리카겔 및 Sephadex LH20등을 이용한 컬럼크로마토그래피를 반복 시행하여 활성 물질을 분리 하였다.

실험방법

실험재료 - 본 실험에 사용된 삼백초 *Saururus chinensis*(L_{OUR.})B_{AILL.}는 1991년 8월경 제주도 오라동에서 재배품을 구매하여 감정 후 음건 세절하여 사용하였다.

시약 및 기기 - 박층 크로마토그래피용 precoated TLC plate는 silica gel 60F₂₅₄(Merck, Art. 5554)를 이용하였고 컬럼 크로마토그래피는 silica gel 60(70~230 mesh, Merck), Sephadex LH20(20~100 μ , Pharmacia)등을 사용하였다. 사용기기로는 용접은 Electrothermal IA8100(uncorrected), 선광도는 Jasco DIP-

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0339-353-1712 (팩스) 0339-353-8701

370, UV spectrum은 Hewlett-Packard 8452A, IR spectrum은 Shimadzu IR-435, ^1H 과 ^{13}C -NMR spectrum은 Bruker AMX-500 그리고 MS spectrum은 Hewlett-Packard 5988를 사용하여 측정하였다.

실험동물 - 삼진 제약(주) 중앙연구소 동물사육실에서 자체 생산한 ICR계 수컷 생쥐(23 ± 2 g)를 실험에 사용하였으며 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 사료는 시판 고형사료(삼양유지 공업주식회사)를 사용하였으며 사육실의 내부온도는 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 $55 \pm 1\%$ 로 유지하였다.

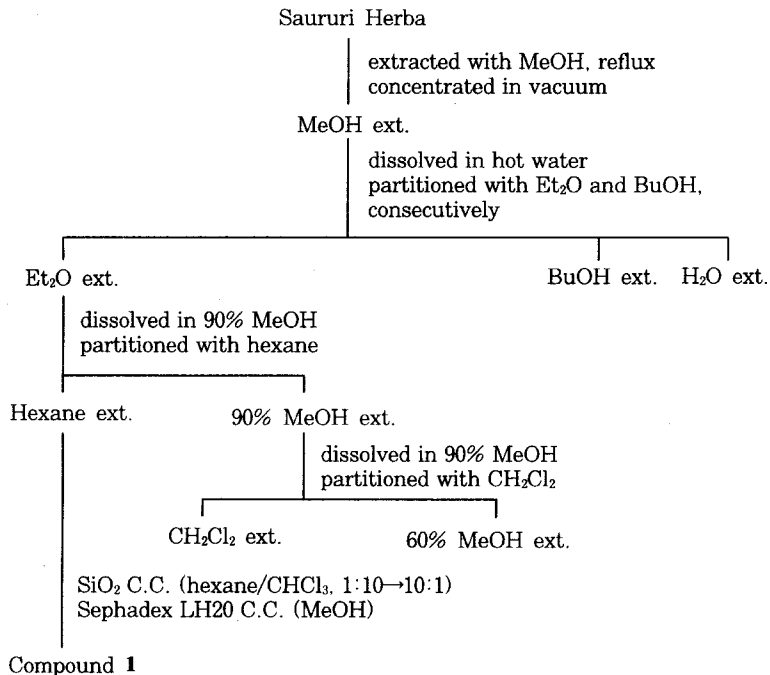
급성 독성실험 - ICR계 수컷 생쥐(체중 23 ± 2 g) 6마리를 한 군으로 compound **1**을 1000, 2000 mg/kg 경구 투여한 후 7일까지의 행동의 이상 유무와 사망 여부를 관찰하였다(Table V).

진통 실험 - Whittle의 방법⁶⁾에 따라 시료를 경구투여하고 60분 후 0.7% 초산 생리식염수 10 ml/kg을 복강 주사하고 10분 후 10분간 일어나는 생쥐의 writhing syndrome의 빈도를 통각 지표로 하여 진통효과를 측정하였다.

추출 및 분리 - 건조된 삼백초 전초 분말(5 kg)을 MeOH(15L)로 3시간씩 3회 환류 냉각 추출하였고 추출액을 비점이하에서 감압 농축하여 MeOH 엑스(480

g)를 얻었다. 이 엑스를 증류수로 현탁 시킨 후 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 Et₂O(81 g) BuOH(130 g), H₂O(259 g)의 엑스를 얻어 이것을 1차 약효 검색의 시료로 사용하였다. Et₂O 가용부가 유의성 있는 활성을 나타내었으며 이것을 MeOH과 hexane 그리고 CH₂Cl₂로 다시 분획 하였다. 이 중에서 hexane 분획이 강한 진통작용을 나타내었다. 따라서 hexane 엑스를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(C₆H₆/CHCl₃, 10:1→1:10, gradient)를 반복 실시하고 Sephadex LH20 gel filtration(MeOH)을 시행하여 활성 성분인 compound **1**(523 mg)을 분리 하였다(Scheme I).

Compound 1 - 무색 침상 결정, mp $223 \sim 224^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} = +82.3^\circ$ (c. 0.02 in CHCl₃), C₂₀H₂₀O₆(HRMS m/z 356.1238, calcd 356.1260), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 240(4.05), 298(3.12). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3450, 3050, 2950, 2880, 2780, 1660, 1490, 1480, 1320, 1240, 1180, 1160, 1040, 980, 920. ^1H -NMR(500MHz CDCl₃) δ : 6.85(s, 1H), 6.41(s, 1H), 5.93(d, J=1.0Hz, 1H), 5.90(d, J=0.9Hz, 1H), 5.68(s, 1H), 5.63(s, 1H), 5.52(s, 1H), 3.06(d, J=5.3 Hz, 1H), 2.53(m, 1H), 2.49(m, 1H), 2.47(m, 1H), 1.94(m, 1H), 1.92(m, 1H), 1.65(m, 1H), 1.22(d, J=7.25



Scheme I — Extraction and Isolation of compound **1** from Saururi Herba.

Hz, 3H), 0.74(*d*, $J=7.35\text{Hz}$, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 199.61, 168.57, 146.64, 144.92, 143.18, 115.66, 106.47, 101.25, 100.34, 100.13, 99.18, 98.56, 37.52, 37.47, 34.98, 34.74, 33.37, 25.19, 21.20, 20.84. MS (EI) m/z (relative intensity): 356(M^+ , 100), 326(21), 325(20), 309(35), 298(63), 288(45), 285(39), 269(57), 257(85), 243(57), 241(48), 229(39), 228(44), 215(50), 189(48), 175(90), 147(47), 138(55), 115(38).

$^{13}\text{C-H}$ COSY NMR(125/500 MHz, CDCl_3) data, see Table IV.

결과 및 고찰

구조확인 - Compound **1**은 무색 침상 결정으로 mp 223~224°C이고, NMR(^1H , ^{13}C)과 MS spectrum의 분자 이온 피크 356(M^+ , 100)등으로 부터 분자식이 $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$ 인 물질로 추정하였다. IR spectrum에서 aromatic C-H(3050cm^{-1}), aliphatic C-H($2950, 2880\text{cm}^{-1}$), conjugated C=O(1660cm^{-1}), ether성 C-O-C stretching band($1180, 1040\text{cm}^{-1}$)와 methylenedioxy O-C-O band(920cm^{-1})등이 관찰되었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum으로 부터 $\delta 6.85$ (s, 1H)와 $\delta 6.41$ (s, 1H)에서 2개의 aromatic 수소, $\delta 5.52$ (s, 1H)의 olefinic 수소 그리고 $\delta 5.93$ (*d*, $J=1.0$, 1H)과 $\delta 5.90$ (*d*, $J=0.9$, 1H)그리고 $\delta 5.68$ (s, 1H)과 $\delta 5.63$ (s, 1H)에서 2개의 methylenedioxy group의 4개의 수소가 존재하는 것을 예상하였다. 또한 $\delta 1.22$ (*d*, $J=7.25\text{Hz}$, 3H)과 $\delta 0.74$ (*d*, $J=7.35$, 3H)에서 2개의 methyl 수소 6개가 vicinal수소에 의해 각각 doublet($J=7.25, 7.35\text{Hz}$)로 관찰되어 compound **1**은 전형적인 8, 8' type의 neolignan으로 추정하였다.⁷⁾ $^{13}\text{C-NMR}$ 에서는 carbonyl 탄소($\delta 199.61$), aromatic oxy탄소($\delta 143.18, 144.92, 146.64$)등을 확인할 수 있었고 $\delta 168.58$ 의 signal은 enone의 γ -탄소가 oxygenation 되어 upfield shift된 β -탄소로 예상하였으며⁹⁾ 그 외에 1개의 methylene 탄소($\delta 25.19$), 2개의 methyl 탄소($\delta 20.84, 21.20$) 그리고 5개의 methine 탄소($\delta 33.37, 34.98, 34.74, 37.52, 37.47$)등을 확인할 수 있었다.⁸⁻⁹⁾ 이상의 결과로 부터 compound **1**은 aromatic ring과 enone group에 각각 methylenedioxy group이 결합되어 있는 고리화 된 tetralin neo-

lignan 구조로 추정하였다. Long range C-H COSY spectrum에서 2개의 aromatic 수소는 $\delta 106.47$ 의 C-6(1H: $\delta 6.85$), $\delta 99.18$ 의 C-3(1H: $\delta 6.41$)에 각각 결합되어 있으며 aromatic에 결합된 methylenedioxy group(^{13}C : $\delta 101.25$, ^1H : $\delta 5.93, 5.90$)은 C-4($\delta 144.92$)와 C-5($\delta 143.18$)에 결합되어 있고 다른 하나(^{13}C : $\delta 98.56$, ^1H : $\delta 5.68, 5.63$)는 enone의 γ -탄소인 C-4'($\delta 168.57$)와 C-5'($\delta 100.13$)에 연결된 것으로 예상하였다. 또한 2개의 methyl기는 C-8($\delta 34.98$)와 C-8'($\delta 33.37$)에 각각 결합되어 있고 $\delta 25.19$ 의 C-7'의 methylene 수소는 $\delta 1.65$ 와 $\delta 1.94$ signal임을 알 수 있었고 3개의 methine 탄소는 각각 C-7($\delta 34.74$), C-6'($\delta 37.47$), C-1'($\delta 37.52$)등으로 확인 할 수 있었다 (Table IV). 따라서 compound **1**은 2'-oxo-4, 5:4', 5'-bis (methylenedioxy)- $\Delta^{1,3,5,3'}$ -8,8', 7, 6'-2-O,5'-neolignan의 구조로 예상되었다.⁷⁾ 이러한 구조는 carpanone($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_6$)의 골격 구조와 같은 것을 알 수 있었으며¹⁰⁻¹²⁾ 또한 compound **1**은 carpanone보다 수소 2개가 많은 것으로 부터 carpanone의 5개의 이중 결합 중에서 한개가 환원된 dihydrocarpanone으로 추정하였다.¹³⁾ compound **1**과 이 물질의 기기분석 데이터 문헌치를 비교한 결과 비교적 잘 일치하였으나 H-6'($\delta 2.89 \rightarrow 2.49$)와 H-8'($\delta 1.58 \rightarrow 1.92$)의 methine 수소 signal이 변화되어 있고 특히 Hax-7'($\delta 1.16 \rightarrow 1.94$), Heq-7'($\delta 2.05 \rightarrow 1.65$)의 methylene 수소 signal등이 각각 shift되어 있는 것으로 부터 compound **1**은 dihydrocarpanone의 H-1'의 입체 배위가 반대 위치에 놓여 있어 인접한 tetrahydropyran

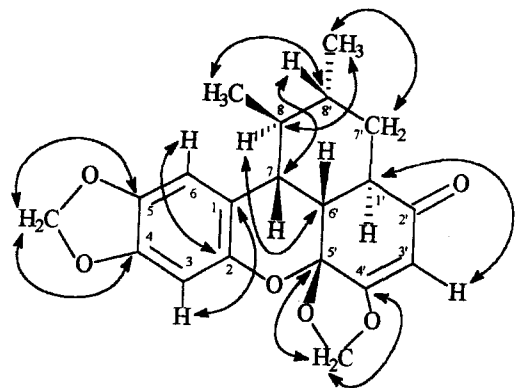


Fig. 1 - Chemical structure and long range $^{13}\text{C-H}$ COSY NMR correlation of compound **1**.

ring의 산소와 carbonyl산소등에 의한 steric effect가 있음을 molecular model에 의한 structure modeling을 통하여 예상 할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해서 compound **1**은 dihydrocarpanone의 H-6'와 H-1'의 cis form이 trans form으로 변화된 구조 이성질체로서 그 구조를(8S, 8'R, 7R, 6'R)-2'-oxo-4, 5 : 4', 5'-bis(methylenedioxy)- $\Delta^{1,3,5,3'}$ -8,8', 7,6', 2.O.5'-neolignan(sauchinone)으로 확정하였으며 기존의 문헌 데이터와 비교 검토한 결과 잘 일치함을 알 수 있었다¹⁴⁾(Fig. 1).

진통작용 및 급성독성 - 삼백초의 MeOH 추출물을 용매 분획하여 얻은 3개의 분획물 Et₂O, BuOH, H₂O 액스에 대하여 acetic acid에 의한 writhing test를 실

Table I—Analgesic effects of partitioned extracts from MeOH ext. of *Saururus chinensis*

Group	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of writhings	Inhibition (%)
Control	—	10	19.4±2.0	—
Et ₂ O	500	10	12.0±1.4**	38.1
BuOH	500	10	16.5±2.3*	14.9
H ₂ O	500	10	18.7±2.6	3.6

Drugs were administered orally 60 min. before the intraperitoneal injection of 0.7% AcOH (10 ml/kg). No. of writhing syndrome was counted for 10 min. after injection of AcOH saline solution. Values are expressed as a mean±S.E. of ten mice. Significantly different from control. *p<0.05, **p<0.01

Table IV—NMR spectral data for compound **1***

Carbon no.	¹³ C (δ)	¹ H (δ, mult, J, Hz)	HMBC (C to H)
1	115.66	—	H-3, H-8
2	146.64	—	H-6, H-3
3	99.18	6.41, s	—
4	144.92	—	H-6
5	143.18	—	H-3, H-6
6	106.47	6.85, s	—
7	34.74	3.05, d, 5.3	H-8'
8	34.98	2.47, m	H-9', H-9, H-7
9	21.20	1.22, d, 7.25	H-8, H-7
1'	37.52	2.53, m	H-8', H-3', H-7
2'	199.61	—	H-6', H-1'
3'	100.34	5.52, s	—
4'	168.57	—	H-3', O-CH ₂ -O
5'	100.13	—	H-3', O-CH ₂ -O
6'	37.47	2.49, m	H-8, H-7, H-7'
7'	25.19	1.94, m: 1.65, m	H-8, H-9'
8'	33.37	1.92, m	H-9, H-7, H-9'
9'	20.84	0.74, d, 7.35	H-7'
4,5-O ₂ CH ₂	101.25	5.93, d, 1.0; 5.90, d, 0.9	—
4',5'-O ₂ CH ₂	98.56	5.68, s; 5.63, s	—

* ¹H and ¹³C NMR spectra were measured in DMSO-d₆ solutions at 500 and 125MHz, respectively.

시하였다. 이 중에서 Et₂O 액스가 Table I에서와 같이 500 mg/kg 용량에서 대조군에 비하여 38.1%의 높은 억제율을 보였다. 따라서 이 액스를 다시 hexane과 CH₂Cl₂로 분획하고 이들에 대한 진통실험을 실시한 결과 hexane 분획이 250 mg/kg 용량에서 41.9%의 억제율로 가장 강한 활성을 나타내었다(Table II). 이에 따라 이 액스를 실리카겔과 Sephadex LH-20을 사용한 칼럼 크로마토그래피를 반복 시행하여 compound **1**을 분리

Table II—Analgesic effects of fractionations from Et₂O ext. of *Saururus chinensis*

Group	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of writhings	Inhibition (%)
Control	—	10	20.5±2.5	—
Hexane	250	10	11.9±1.5**	41.9
CH ₂ Cl ₂	250	10	15.8±2.1*	22.9
60% MeOH	250	10	17.4±2.5	15.1

*p<0.05, **p<0.01

Table III—Analgesic effect of compound **1** isolated from the hexane extract of *Saururus chinensis*

	Dose (mg/kg, po)	No. of animals	No. of writhings	Inhibition (%)
Control	—	10	19.0±1.9	—
Compound 1	25	10	14.8±1.7**	22.1
	50	10	11.3±1.1**	40.5
Acetaminophen	100	10	11.2±0.9**	41.0

**p<0.01

Table V— Acute toxicity of compound **1** in mice

Route of administration (mg/kg)	Dose	Number of treated mouse	Number of died mouse
<i>p.o</i>	1000	6	0
	2000	6	0

하였다. Compound **1**은 Table III에 나타난 바와 같이 투여량이 25, 50 mg/kg에서 각각 22.1%와 40.5%의 억제율을 나타내었는데 이것은 대조약물로 사용한 acetaminophen 100 mg/kg(41%) 용량의 억제율과 비교하여 거의 같은 정도의 약효를 나타내었다. 또한 생쥐에 대한 급성독성 실험결과 1000 mg/kg, 2000 mg/kg 용량의 경구투여에서 모두 독성이 관찰되지 않았다 (Table V).

결 론

천연자원으로 부터 새로운 진통제 개발을 위하여 삼백초 *Saururus chinensis*(L_{OUR.})B_{ALL.} 전초의 MeOH 추출물을 진통활성에 따른 용매 분획과 칼럼크로마토그래피를 반복 시행하여 활성 물질인 compound **1**을 단리하였다. 이 화합물은 물리 화학적 성질과 기기분석 데이터를 종합하여(8S, 8'R, 7R, 6'R)-2'-oxo-4, 5 : 4', 5'-bis(methylenedioxy)- $\Delta^{1,3,5,3'}$ -8,8', 7,6', 2.O.5'-neolignan(sauchinone)으로 확인 동정하였다. 이 화합물에 대한 진통실험 결과 25, 50 mg/kg 용량의 투여군이 대조군에 비하여 22.1%와 40.5%의 억제 효과를 나타내었다. 이것은 현재 임상에서 사용되는 약물인 acetaminophen 100 mg/kg 용량과 비교하여 거의 같은 진통 활성이 있음을 알 수 있었다. 또한 생쥐에 대한 급성독성 실험결과 경구투여에서 최소 사망 용량이 2000 mg/kg 이상으로 대조약물로 사용한 acetaminophen(LD₅₀ mg/kg : *p.o*=640)¹⁵⁾에 비하여 안전성이 매우 높은 것으로 평가 되었다.

문 헌

- 1) 이창복 : 대한식물도감, 향문사, 서울, p. 252 (1979).
- 2) 김재길 : 원색 천연약물 대사전(하), 남산당, 서울, p. 174 (1984).
- 3) 新文豊 出判公司 : 新編 中藥大辭典(中), 臺北, p. 62 (1971).
- 4) H. Y. Hsu, Y. P. Chen, S. J. Shen, C. S. Hsu, C. C. Chen and H. C. Chang : Oriental Materia Medica, Oriental healing arts institute, Long Beach, p. 308 (1986).
- 5) S. K. Park, G. J. Oh, C. I. Bae, H. J. Kim, W. S. Han, S. G. Chung and E. W. Cho : Studies on the cytotoxic constituent of *Saururus chinensis* (L_{OUR.})B_{ALL.} · *Yakhak Hoeji* **41**, 704 (1997).
- 6) Whittle, B. A. : The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. *Brit. J. Pharmacol.* **22**, 246 (1964).
- 7) J. W. Rowe : Natural products of woody plants (I), Springer-Verlag, Berlin, p. 439 (1989).
- 8) E. Pretsch, J. Seibl, W. Simon and T. Clerc : Spectral data for structure determination of organic compounds, Springer-Verlag, Berlin, p. 185 (1989).
- 9) H. O. Kalinowski, S. Berger and S. Braun : Carbon-13 NMR spectroscopy, John Wiley&Sons, New York, p. 270 (1988).
- 10) J. C. Sloop : Microscale synthesis of the natural products capranone and piperine. *J. Chem. Education*, **72**, A25(1995).
- 11) O. L. Chapman, M. R. Engel, J. P. Springer and J. C. Clardy : The total synthesis of capranone. *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 6696 (1971).
- 12) M. R. Iyer and G. K. Trivedi : Silver(I) oxide catalyzed oxidation of *o*-ally- and *o*-(1-propenyl) phenols. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **65**, 1662 (1992).
- 13) G. C. Brophy, J. Mohandas, M. Slaytor, S. Sternhell, T. R. Watson and L. A. Wilson : Novel lignans from a *Cinnamomum* sp. from Bougainville. *Tetrahedron Letters* **59**, 5159 (1969).
- 14) . C. Wang, M. H. Shih, M. C. Liu, M. T. Chen and G. H. Lee : Studies on constituents of *Saururus chinensis*. *Heterocycles*, **43**, 969 (1996).
- 15) Japan pharmaceutical information center : Drugs in Japan(ethical drugs). Yakugy Jiho Co., Tokyo, p. 37 (1997).