

오미자(*Schizandra chinensis* BAILL.) 열매로부터 항경련 활성물질의 분리

백남인* · 한재택 · 안은미 · 박진규¹ · 조성우² · 전성규³ · 장중식³ · 김종권³ · 최수영³

경희대학교 생명과학부 및 생명과학연구원, ¹한국인삼연구소, ²울산대학교 의과대학 생화학교실, ³한림대학교 생명과학부 유전공학과

초 록 : 항경련 활성을 보인 오미자의 열매로부터 활성물질을 분리하기 위하여 MeOH로 추출하고, 추출물을 EtOAc, *n*-BuOH 및 물로 분배, 추출하였다. 얻어진 각 분획에 대하여 중추 신경계에서 억제성 신경전달물질로 알려진 γ -aminobutyric acid(GABA)의 대사조절효소들인 succinic semialdehyde reductase (SSAR) 및 succinic semialdehyde dehydrogenase(SSADH)의 활성을 측정하였다. 활성 억제효과를 나타낸 EtOAc 분획으로부터 silica gel column chromatography를 반복하여 sesquiterpene 및 sterol 배당체 각 1종, lignan 화합물 4종을 분리, 정제하였다. 각각의 화학구조는 NMR, MS 등의 스펙트럼 데이터를 해석하여, chamigrenal, daucosterol, gomisin A, gomisin H, gomisin N 및 schizandrin으로 동정하였다. 각 화합물에 대하여 활성을 측정한 결과, schizandrin을 SSADH와 1시간 전처리하였을 때 효소의 활성은 65% 억제되었으며, daucosterol의 경우에는 같은 조건에서 SSAR의 활성을 80% 억제하는 것을 관찰할 수 있었다. (1999년 12월 6일 접수, 2000년 1월 22일 수리)

서 론

γ -Aminobutyric acid (GABA)는 중추 신경계에 작용하는 억제성 신경전달물질로, 이 물질의 극심한 농도 감소는 경련, 발작을 유발한다. 따라서 효과적인 항경련 약제를 효소 수준에서 개발하기 위하여, 체내에서 glutamate로부터 GABA 합성에 관여하는 glutamate decarboxylase (GAD) 효소의 활성을 높여주거나, GABA 분해에 관여하는 GABA transaminase (GABA-T), succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH) 및 succinic semialdehyde reductase (SSAR) 효소활성을 억제하는 물질탐색을 모색할 수 있다.^{1,4)}

저자 등은 천연소재로부터 부작용이 적으며, 약효가 뛰어난 항경련 약물을 개발하기 위하여, 항경련활성이 기대되는 100여종의 식물 추출물에 대하여 상기 관련 효소들에 미치는 영향을 조사하였다.⁵⁾ 활성을 나타낸 식물체중에서 천마(*Gastrodia elata*)로부터 SSADH 활성을 억제하는 gastrodin을 분리, 보고한 바 있다.⁶⁾ 이번에는 SSADH 및 SSAR 효소의 활성억제를 보인 오미자 (*Schizandra chinensis* B.)의 열매로부터 활성본체를 규명하기로 하였다.

오미자는 덩굴성 목본식물로, 우리나라의 중·북부 지역에 자생하거나 재배하며, 그 실과를 10월 하순에 채집, 건조하여 약재로 사용한다. 자양, 강장, 止渴의 효능이 있는 것으로 알려져 있으며, 중추신경의 기능 강화, 혈액순환 개선, 止咳祛痰,⁷⁾ 만성간염 치료^{8,9)}에 관한 연구결과가 보고되어 있다. 오미자의 실과로부터 schizandrin, gomisin과 같은 다수의 lignan 화합물,¹⁰⁻¹⁵⁾ sesquiterpene 정유성분¹⁶⁾이 분리되었다.

오미자 열매를 대상으로 활성물질을 추출하고, 용매분획한 후, 항경련 활성을 측정하였고, 활성을 보인 EtOAc 분획으로부터 silica gel column chromatography하여 주요성분을 분리, 동정하였으며, 각 성분의 GABA 대사조절효소인 SSAR과 SSADH 효소들에 대한 억제효과를 조사하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약

¹H-NMR (400 MHz), ¹³C-NMR (100 MHz), DEPT spectra는 JEOL JNM-LA 400(Tokyo, Japan)으로, IR spectrum은 Perkin-Elmer model 599B(Massachusetts, USA)로 측정하였으며, 융점은 Fisher melting point apparatus 로 측정하였고 미보정하였다. 홍광스펙트럼은 Kontron UVIKON Model 930을 사용하였으며, column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70-230 mesh, Merck)을, TLC는 Kieselgel 60 F₂₅₄를 사용하였고, 실험에 이용한 모든 시약들은 특급시약을 사용하였다.

동물 및 식물시료

소의 뇌조직은 서울 마장동 도축장에서 구입하였고, 식물시료들은 경동시장에서 구입한 후, 생명공학연구소 이형규 박사에게 의뢰하여 동정하였으며, 식물 표본시료는 경희대학교(수원) 천연물화학실 시료실에 보관되어 있다.

뇌조직 SSAR, SSADH의 순수 분리, 정제 및 활성 측정
소의 뇌조직으로부터 SSAR 및 SSADH 효소를 정제하기 위하여 ammonium sulfate fractionation, CM-Sephadex, DEAE-Sephadex, Hydroxyapatite, derivatized Sepharose 및 5'-AMP-Sepharose 크로마토그래피 방법을 이용하였다.^{3,4)}

SSAR의 효소 활성 측정은 보조인자인 NADPH가 NADP⁺로

찾는말 : 오미자, succinic semialdehyde reductase, succinic semialdehyde dehydrogenase, daucosterol, lignan

*연락처 : Tel : 0331-201-2661, Fax : 0331-204-8116

E-mail : nibaek@nms.kyunghee.ac.kr

산화되는 것을 340 nm에서 흡광도 값의 감소로써 측정하였다. Assay mixture는 succinic semialdehyde (120 μM)와 NADPH (50 μM)를 포함하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.2, 25°C)를 사용하였다.

SSADH의 효소 활성도 측정은 최종농도 500 μM NAD⁺, 50 μM succinic semialdehyde를 포함하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.4)에 효소를 넣어 25°C에서 반응시켜 NADH가 생성되는 양을 340 nm에서 측정하였다.

SSAR, SSADH 억제활성의 측정

동정한 화합물의 SSAR과 SSADH에 대한 억제활성 측정은 화합물을 여러가지 농도로 조절한 효소와 상온에서 1시간 동안 전처리 한 후, 앞에서 언급한 방법으로 효소의 활성을 측정하였다. 또한 이 화합물이 효소의 어느 부위에서 반응하는 가를 알아보기 위하여 효소와 화합물을 반응시키기 전에 SSAR과 SSADH에 대한 각각의 보조인자들(NADPH, NAD⁺)이나 이 효소들의 기질인 succinic semialdehyde를 효소와 반응시킨 후, 화합물에 대한 효소의 활성을 측정하였다.

활성물질의 분리

풍건한 오미자 열매 3 kg을 실온에서 80% methanol (MeOH) 수용액으로 추출, 여과, 감압농축하여 MeOH 추출물을 얻었다. Ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (*n*-BuOH), H₂O를 이용하여 순차적으로 분배, 추출하였고, 각각을 감압농축하여 3개의 분획(SCE, SCB, SCW)을 얻었다.

EtOAc 분획(SCE, 50 g)을 silica gel column chromatography (c. c.) (300 g, *n*-hexane-EtOAc = 5 : 1 → 1 : 1 → CHCl₃-MeOH = 20 : 1 → 10 : 1 → 7 : 1)하여, TLC로 확인하여 유사한 분획끼리 합하고, 농축하여 14개의 소분획(SCE1~SCE14)을 얻었다. SCE3 분획(1.869 g)을 다시 silica gel c. c. (60 g, *n*-hexane-EtOAc = 15 : 1)하여 SCE3-1 (913 mg)을 분리하였고, 다시 silica gel c. c. (60 g, *n*-hexane-CHCl₃-EtOAc = 8 : 1 : 0.5)로 정제하여 SCE3-1-1 (880 mg, chamigrenal, 1)을 얻었다.

Chamigrenal (1): colorless oil, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), 9.35(1 H, s, H-14), 6.79 (1 H, dd, *J* = 6.3, 3.9 Hz, H-2), 4.85, 4.35 (each 1 H, both br. s, H-15α or 15β), 2.40-1.56 (methylene), 0.91, 0.87 (each 3H, both s, H-12, 13). ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃), 192.89 (C-14), 150.32 (C-2), 147.84, 140.28 (C-1, 7), 110.25 (C-15), 45.47, 36.33 (C-4, 11), 36.74, 31.45, 30.09, 24.49, 23.08, 18.65 (methylene, C-3, 5, 6, 8, 9, 10), 24.41, 22.65 (C-12, 13).

SCE5 (4.76 g) 분획을 silica gel c. c. (300 g, *n*-hexane-EtOAc = 5 : 1) 하여 SCE-5-1 (1.56 g, gomisin N, 2)을 분리, 정제하였다.

Gomisin N (2) colorless prisms (*n*-hexane-EtOAc): ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃); Table 2, ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃); Table 1.

SCE7(10.1 g)을 silica gel c. c. (300 g, *n*-hexane-EtOAc = 1 : 1) 하여 3개의 소분획 (SCE7-1~SCE7-3)을 얻었으며, 이중 SCE7-1 분획 (7.3 g)에 대하여 다시 silica gel c. c. (100 g, *n*-

Table 1. ¹³C-NMR chemical shifts of lignans isolated from the fruits of *Schizandra chinensis* (100 MHz, CDCl₃)

No of C	gomisin A	gomisin H	gomisin N	schizandrin
1	151.67	152.22	151.47	151.50
2	140.11	140.61	139.88	140.36
3	151.44	151.88	151.40	151.60
4	110.01	110.30	110.00	110.12
5	131.74	133.73	133.31	131.62
6	40.05	40.71	34.14	40.54
7	71.13	71.70	40.56	71.62
8	41.41	41.68	33.40	41.40
9	33.25	34.14	38.94	33.98
10	134.38	133.73	137.62	133.56
11	105.33	109.87	102.77	109.78
12	147.35	151.71	148.51	152.00
13	131.97	140.05	134.39	140.84
14	140.66	151.41	140.90	151.19
15	123.50	124.02	123.15	122.20
16	121.37	122.64	121.15	124.20
17	15.53	15.72	21.39	15.52
18	29.54	29.66	12.66	29.39
1-OMe	58.93	60.78	59.42	60.23 ^a
2-OMe	60.34	60.44	60.81	60.53 ^b
3-OMe	55.32	55.83	55.70	55.58 ^c
12-OMe		55.76		55.53 ^c
DOM*	100.29		100.56	
13-OMe		60.48		60.53 ^b
14-OMe	59.94	-	60.36	60.20 ^a

*12,13-dioxymethylene.

a,b,c : exchangeable in the same column.

hexane-EtOAc = 2 : 1)하여 4개의 소분획 (SCE7-1-1~SCE7-1-4)를 얻었다. SCE7-1-2 분획 (3.2 g)을 다시 silica gel c. c. (1.3 g, *n*-hexane-EtOAc = 2 : 1)하여 SCE7-1-2-3 (820 mg, gomisin A, 3) 및 SCE-7-1-2-5 (340 mg, schizandrin, 4)를 분리, 정제하였다.

Gomisin A (3) colorless crystals (*n*-hexane-EtOAc): ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃); Table 2, ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃); Table 1.

Schizandrin (4) colorless crystals (*n*-hexane-EtOAc): ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃); Table 2, ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃); Table 1.

위에서 얻은 SCE8 분획을 이용하여 silica gel c. c. (300 g, CHCl₃-MeOH = 20 : 1 → 10 : 1)하여 SCE8-1 (1.3 g, gomisin H, 5)를 분리, 정제하였다.

Gomisin H (5) colorless plates (*n*-hexane-EtOAc): ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃); Table 2, ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃); Table 1.

SCE12 분획(2.50 g)에 대하여 silica gel c. c. (200 g, CHCl₃-MeOH = 7 : 1)하여 SCE12-2 (102 mg, daucosterol, 6)을 분리, 정제하였다.

Daucosterol (6): ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ) 5.33 (1H, br. s, H-6), 5.03 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, anomeric-H), 3.95 (1H, m, H-3), 0.98 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, H-21), 0.93 (3H, s,

Table 2. ¹H-NMR data of lignans isolated from the fruits of *Schizandra chinensis* (400 MHz, CDCl₃)

No of H	gomisin A	gomisin H	gomisin N	schizandrin
4	6.65, s	6.56, s	6.52, s	6.64, s
6 α	2.66, d, 13.4**	2.61, d, 13.4	2.00-2.52	2.67, d, 13.5
6 β	2.36, d, 13.4	2.34, d, 13.4	2.39, d, 13.5	
7	-		1.86 m	
			or	
8	1.84, m	1.80, m	1.76, m	1.77, m
9 α	2.32, dd, 12.9/7.6	2.32, dd, 13.1/7.6		2.36, dd, 13.5/7.6
			2.00-2.52	
9 β	2.63, dd, 12.9/2.0	2.60, dd, 13.1/2.0		2.71, dd, 13.5/2.0
11	6.47, s	6.49, s	6.45, s	6.56, s
17	1.23, s	1.20, s	0.94, d, 7.3	1.26, s
18	0.81, d, 7.3	0.77, d, 3.5	0.70, d, 7.1	0.83, d, 7.0
DOM*	5.19, s		5.90, s	
OMe	3.85, 3.84	3.85, 3.84, 3.83	3.87, 3.85	3.91, 3.90, 3.89
	3.53, 3.52	3.83, 3.52	3.79, 3.51	3.84, 3.59, 3.58

*12,13-dioxymethylene ** $[\delta_c, \text{coupling pattern, coupling constant (Hz)}]$.

H-18), 0.86 (3H, t, $J=7.1$ Hz, H-29), 0.88 (3H \times 2, d, $J=8.1$ Hz, H-26, 27), 0.65 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_c) 140.03 (s, C-5), 121.91 (d, C-6), 102.59 (d, C-1'), 78.61, 78.46 (both d, C-3', 5'), 78.14 (d, C-3), 75.34 (d, C-2'), 71.72 (d, C-4'), 62.86 (t, C-6'), 56.84 (d, C-14), 56.27 (d, C-17), 50.36 (d, C-9), 46.06 (d, C-24), 42.50 (s, C-13), 39.97, 39.35 (both t, C-4, 12), 37.49 (t, C-1), 36.93 (s, C-10), 36.39 (d, C-20), 34.23 (t, C-22), 32.19 (t, C-7), 32.07 (d, C-8), 29.96 (t, C-2), 29.50 (d, C-25), 28.54 (t, C-16), 26.43 (t, C-23), 24.51 (t, C-15), 23.41 (t, C-28), 21.29 (t, C-11), 19.97 (q, C-27), 19.42 (q, C-19), 19.22 (q, C-26), 19.02 (q, C-21), 12.17 (q, C-29), 11.98 (q, C-18).

결과 및 고찰

중추 신경계에서 주 억제성 신경전달물질로 알려진 GABA의 비정상적인 낮은 농도가 경련, 발작 그리고 간질 등을 유발하는 원인 중의 하나로 알려져 있기 때문에, GABA 농도를 높여 줄 수 있는 GABA 분해효소들에 대해 특이한 저해 효과를 지닌 물질을 항경련 또는 항간질 제제로 이용할 수 있다.

최근에 본 연구진에서는 약 100여종의 생약재를 탐색하여 오미자(*Schizandra chinensis* B.)의 열매 추출물이 GABA 분해효소인 SSAR 및 SSADH의 활성을 감소시킨다는 결과를 얻은 바 있다.⁵⁾ 그러므로 본 연구에서는 오미자로부터 SSAR 및 SSADH의 효소 활성을 저해시킴으로써 항경련 효과를 나타내는 단일 성분을 오미자로부터 순수분리 정제한 후 동정하였다.

오미자 열매를 MeOH로 추출하고, 얻어진 추출물을 용매의 극성에 따라 EtOAc, *n*-BuOH와 H₂O로 분배 추출하였다. 각각의 분획에 대하여 항경련 활성을 측정하고 EtOAc 분획에 활성이 있음이 확인되었다. EtOAc 분획을 용매를 달리해가며 column chromatography를 반복하여 6종의 화합물을 분리 정제하였다.

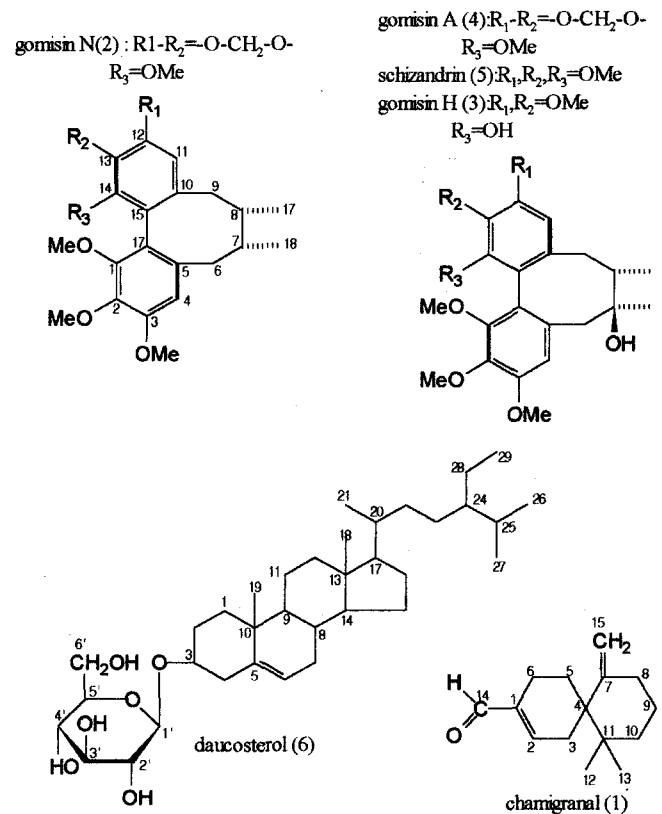


Fig. 1. Chemical structures of some compounds isolated from the fruits of *Schizandra chinensis*.

화합물 1은 ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) spectrum에서, 1개의 aldehyde (δ_c 192.89, d), 4개의 olefine형 탄소 [δ_c 150.32 (d), 147.84 (s), 140.28 (s), 110.25 (t)] 및 고자장 영역에서 2개의 사급 탄소 (δ_c 45.47, 36.33), 6개의 methylene (δ_c 36.74 -18.65), 2개의 methyl (δ_c 24.41, 22.65) signal이 관측되어, aldehyde와 2쌍의 이중결합을 갖는 sesquiterpene 화합물로 판명되었다. ¹H-NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃)에서도

aldehyde (δ 9.35, s), olefinic methine (δ 6.79, br. s), exomethylene (δ 4.85, br. s; δ 4.35, br. s), 2개의 singlet methyl (δ 0.91, 0.87) 및 다수의 methylene (δ 2.48-1.02) signal이 관측되었다. 이상의 결과를 바탕으로 문헌¹⁷⁾과 비교하여 화합물 1을 chamigrenal로 동정하였다.

화합물 2~5는 ¹³C-NMR spectra에서 methoxy 또는 dioxymethylene을 제외하면, 모두 18개의 탄소로 이루어진 화합물로 판명되었으며, 그 중에서 18개는 aromatic 탄소로, 6개는 aliphatic 탄소로 밝혀져 모두 lignan 화합물로 동정되었다.

무색 주상 (*n*-hexane-EtOAc)의 화합물 2는 ¹³C-NMR spectrum (100 MHz, CDCl₃)의 olefine 영역에서 6개의 산소와 결합된 사급 탄소 (δ_c 151.47, 151.40, 148.51, 140.90, 139.88, 134.34), 4개의 사급 탄소 (δ_c 137.72, 133.31, 123.15, 121.15) 및 2개의 methine 탄소 (δ_c 110.00, 102.77) signal이 관측되었고, 고자장 영역에서는 2개의 methylene (δ_c 38.94, 34.14) 2개의 methine (δ_c 40.56, 33.40) 및 2개의 methyl (δ_c 21.39, 12.66) signal이 관측되어 dibenzocyclooctane 구조를 갖는 lignan 화합물로 추정되었다. ¹H-NMR spectrum (400 MHz, CDCl₃)에서도 2개의 singlet benzene 수소 (δ 6.52, 6.45)와 2개의 doublet methyl (δ 0.94, 0.70), 2개의 methine (δ 1.88-1.72) 및 2개의 methylene (δ 2.0-2.52) signal들로부터 위의 구조가 확인되었다. 그 외에 4개의 methoxy [δ 3.87, 3.85, 3.79, 3.51 (each 3H, all s); δ_c 60.81, 60.36, 59.42, 55.70]와 1개의 dioxymethylene [δ 5.90 (2H, s); δ_c 100.56 (t)]의 존재가 확인되었다. 이상의 결과로부터 화합물 2는 gomisin N으로 동정하였다.

화합물 3 (무색판상, *n*-hexane-EtOAc)은 화합물 2와 유사한 물리, 화학적 특성을 나타냈다. NMR spectrum에서 화합물 2와의 차이점은 산소와 결합된 사급 탄소 (δ_c 71.70) 및 singlet methyl (δ 1.20, δ_c 15.72) signal이 관측된 점과, methylene의 2개의 proton signal이 geminal coupling만을 갖는 doublet (δ 2.61, 2.34) 으로 각각 관측된 점, 또한 dioxymethylene signal이 보이지 않고 대신에, 모두 5개의 methoxyl signal (δ 3.85, 3.84, 3.83, 3.53, 3.52, δ_c 60.78, 60.48, 60.44, 55.83, 55.76) 이 관측된 점이였다. 따라서 화합물 3을 gomisin H로 동정하였다.

화합물 5(무색결정, *n*-hexane-EtOAc)는 화합물 3과 매우 유사하였으나, NMR spectrum 에서 methoxy signal이 6개 (δ 3.91, 3.90, 3.89, 3.84, 3.59, 3.58, δ_c 60.53, 60.53, 60.23, 60.20, 55.58, 55.53) 관측된 점이 달랐기 때문에 schizandrin으로 동정하였다.

화합물 4 (무색결정, *n*-hexane-EtOAc)는 1개의 dioxymethylene (δ 5.19, δ_c 100.29)과 4개의 methoxyl기 (δ 3.85, 3.84, 3.83, 3.52, δ_c 60.34, 59.94, 58.93, 55.32)가 관측된 점으로부터 gomisin A로 동정하였다.

화합물 6 (무색결정, Py-MeOH-H₂O)은 1개의 hemiacetal (δ 5.01, δ_c 102.55)과 다수의 oxygenated methine 및 methylene (δ 5.34-4.07, δ_c 78.54-62.80) signal의 관측으로 배당체로 판명되었다. ¹³C-NMR spectrum에서 당을 제외하면 모두 29개의 signal이 관측되어 sterol 배당체로 밝혀졌다. ¹H-NMR spectrum

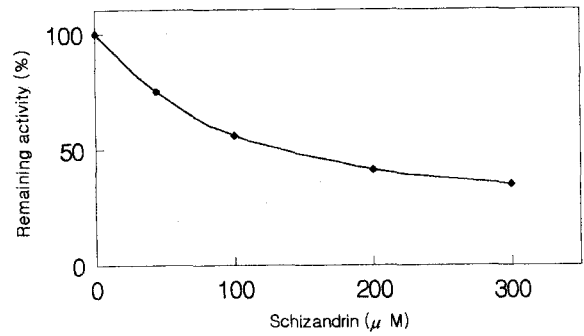


Fig. 2. Inhibition of succinic semialdehyde dehydrogenase by schizandrin. The enzyme (10 μM) was preincubated with each concentrations of schizandrin (50, 100, 200 and 300 μM) in 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) at 25°C.

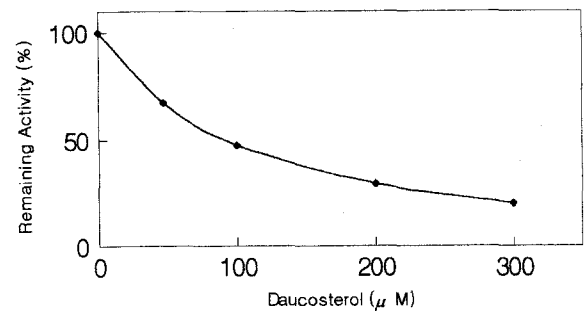


Fig. 3. Inhibition of succinic semialdehyde reductase by daucosterol. The enzyme (10 μM) was preincubated with each concentrations of daucosterol (50, 100, 200 and 300 μM) in 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) at 25°C.

에서 1개의 이중결합 (δ 5.33), 1개의 oxygenated methine (δ 5.33), 2개의 singlet methyl (δ 0.92, 0.65), 3개의 doublet methyl (δ 0.98, 0.88, 0.88) 및 1개의 triplet methyl signal이 관측되어 aglycone은 β -sitosterol로 추정되었다. ¹³C-NMR spectrum에서의 chemical shift로부터 aglycone이 β -sitosterol이라는 점과 당은 D-glucopyranose인 점이 확인되었으며, ¹H-NMR spectrum에서 anomeric proton signal의 coupling constant가 7.4 Hz인 점으로부터 당이 β 결합하고 있음이 판명되었다. 따라서 화합물 6은 β -sitosterol의 3번 수산기에 D-glucopyranose가 β 결합한 daucosterol로 동정하였다.

분리한 6개의 화합물에 대하여 항경련 관련 효소들의 활성에 미치는 영향을 측정하였다. 위의 정제된 순수 화합물들은 모두 GABA transaminase에 대하여 효능을 보이지 않은 반면, schizandrin과 daucosterol의 경우 succinic semialdehyde dehydrogenase와 succinic semialdehyde reductase에 대해 각각 저해효과를 나타내었다. Succinic semialdehyde dehydrogenase의 경우, schizandrin 농도의 증가에 따라 효소 활성이 65% 정도 감소됨을 알 수 있으며(Fig. 2), succinic semialdehyde reductase는 daucosterol의 농도에 따라 80%의 효소 활성 저해효과를 나타내었다.(Fig. 3) 이러한 schizandrin과 daucosterol에 의한 GABA 분해효소들의 저해효과는 생체 내에서 신경전달물질인 GABA의 농도를 증가시키므로써 항경련제로서의 가능성을 시사해주는 중요한 결과이다. Schizandrin과 daucosterol에

Table 3. Inactivation of succinic semialdehyde dehydrogenase and succinic semialdehyde reductase by schizandrin and daucosterol, respectively

Preincubation mixture	Remaining activity (%)
SSADH (10 μ M)	100
SSADH (10 μ M)+schizandrin (300 μ M)	35
SSADH (10 μ M)+SSA (500 μ M)+schizandrin (300 μ M)	38
SSADH (10 μ M)+NAD+(1 mM)+schizandrin (300 μ M)	99
SSAR (10 μ M)	100
SSAR (10 μ M)+daucosterol (300 μ M)	20
SSAR (10 μ M)+SSA (500 μ M)+daucosterol (300 μ M)	30
SSAR (10 μ M)+NADPH (1mM)+daucosterol (300 μ M)	98

의한 억제활성효과는 succinic semialdehyde dehydrogenase와 reductase의 보조인자인 NAD⁺와 NADPH를 각각 전처리한 후 활성도 변화를 측정된 결과, 효소 억제활성을 나타내지 않는 것으로 보아 schizandrin과 daucosterol은 이들 효소의 보조인자 결합부위에 결합하는 것으로 추측할 수 있다.(Table 3)

항경련 억제활성을 나타낸 schizandrin은 lignan 화합물로, 유사한 구조를 갖는 오미자의 다른 lignan 화합물인 gomisin들에서는 억제활성이 보이지 않아, 미세구조의 차이에 따른 활성변화를 연구할 필요가 있다. 또한 daucosterol은 식물체에 널리 분포하는 sterol 배당체로 그 동안은 거의 흥미를 끌지 못하였으나, 최근 들어 여러 가지 유용한 활성들이 밝혀지고 있으며 이에 대한 활발한 연구가 진행되고 있다.

감사의 글

본 연구는 보건의료기술 연구개발사업(HMP-97-D-4-0024)과 관련하여 보건복지부로부터 지원 받은 연구비에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- Choi, S. Y., Cho, S. W. and Choi, E. Y. (1993) Effect of the anticonvulsant drugs on succinic semialdehyde reductase from bovine brain. *The J. of Appl. Pharmacol.* **1**, 93-97.
- Yoo, B. K., Hong, J. W., Suk, J. W., Yoo, J. S., Ahn, J. Y., Lee, K. S., Cho, S. W. and Choi, S. Y. (1996) Inhibitory actions of the antidepressant/antipanic drug phenelzine on brain GABA transaminase. *Arch. Pharm. Res.* **19**(6), 480-485.
- Cho, S. W., Song, M. S., Kim, G. Y., Choi, E. Y., Kang, W. D. and Choi, S. Y. (1993) Kinetics and mechanism of an NADPH-dependent succinic semialdehyde reductase from bovine brain. *Eur. J. Biochem.* **211**, 757-762.
- Lee, B. R., Hong, J. W., Yoo, B. K., Lee, S. J., Cho, S. W. and Choi, S. Y. (1995) Bovine brain succinic semialdehyde dehydrogenase; Purification, kinetics and reactivity of lysyl residues connected with catalytic activity. *Mol. Cell.* **5**(6), 611-

617.

- Baek, N. I., Ahn, E. M., Hah, J. T., Jeon, S. G., Bahn, J. H., Sun, H. J., Cho, S. W., Park, J. K. and Choi, S. Y. (2000) Effect of several medicinal plants on activity of GABA metabolizing enzymes; submitted to *Kor. J. Pharmacog.*
- Beak, N. I., Choi, S. Y., Park, J. K., Cho, S. W., Ahn, E. M., Jeon, S. G., Lee, B. R., Bahn, J. H., Kim, Y. K. and Shon, I. H. (1999) Isolation and identification of succinic semialdehyde dehydrogenase inhibitory compound from the rhizome of *Gastrodia elata* Blume. *Arch. Pharm. Res.* **22**(2), 219-224.
- Soka, T. (1985) In 'Encyclopedia of Chinese drugs', Vol. 2, 872, Shanghai Science & Technology Press, Shogakukan, Tokyo, Japan.
- Liu, K. T., Columelli, S. and Lesca, P. (1982) Pharmacological properties of dibenzo[a,c]cyclooctene derivatives isolated from fructus *Schizandra chinensis* II. Induction of phenobital-like Hepatic. *Chem. Biol. Interact.* **39**(3), 315-30.
- Liu, K. T. and Lesca P. (1982) Pharmacological properties of dibenzo[a,c] cyclooctene derivatives isolated from fructus *Schizandra chinensis* I. Interaction with rat liver cytochrome P-450 and inhibition of xenobiotic metabolism and mutagenicity. *Chem. Biol. Interact.* **39**(3), 301-314.
- Taguchi, H. and Ikeya, Y. (1975) The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. I. The structures of gomisin A, B and C. *Chem. Pharm. Bull.* **23**(12), 3296-3298.
- Ikeya, Y. and Taguchi, H. (1976) The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. I. The structures of New lignan, gomisin D. *Tetrahedron Lett.* **17**, 1359-1362.
- Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I. (1978) The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. The structures of three new lignans, angeloylgomisin H, tigloylgomisin H and benzoylgomisin H, and the absolute structure of schizandrin. *Chem. Pharm. Bull.* **26**(1), 328-331.
- Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I. (1978) The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. The structures of two new lignans, gomisin N and tigloylgomisin P. *Chem. Pharm. Bull.* **26**(10), 3257-3260.
- Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H. (1979) The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. III. The structures of four new lignans, gomisin H and its derivatives, angeloyl-, tigloyl- and benzoyl-gomisin H. *Chem. Pharm. Bull.* **27**(7), 1576-1582.
- Taguchi, H. and Ikeya, Y. (1977) The constituents of *Schizandra chinensis* BAILL. The structures of two new lignans, gomisin F and G, and the absolute structures of gomisin A, B, and C. *Chem. Pharm. Bull.* **25**(2), 364-366.
- Ohta, Y. and Hirose, Y. (1968) Structure of sesquicarenene. *Tetrahedron Lett.* **10**, 1251-1254.
- Jung, K. Y., Oh, S. R., Kim, D. S., Kim, J. H., Lee, J. J., Lee, H. K., Lee, S. H., Kim, E. H., Cheong, C. J. (1997) Platelet-activating factor antagonistic activity and ¹³C-NMR assignment of pregomisin and chamigrenal from *Schizandra chinensis*. *Arch. Pharm. Res.* **20**(6), 633-636.

Isolation of Anticonvulsant Compounds from the Fruits of *Schizandra chinensis* BAILL.

Nam-In Baek*, Jae-Taek Han, Eun-Mi Ahn, Jin-Kyu Park¹, Sung-Woo Cho², Seong-Gyu Jeon³, Joong-Sik Jang³, Choong Kwon Kim³ and Soo-Young Choi³(Department of Life Sciences & Institute of Life Sciences, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea; ¹Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea; ²Department of Biochemistry, College of Medicine, University of Ulsan, Seoul 138-736, Korea; ³Department of Genetic Engineering, Division of Life Sciences, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea)

Abstract: The repeated silica gel column chromatographies of EtOAc fraction, showing anticonvulsant activity, obtained from MeOH extracts of *Schizandra chinensis* B. fruits led to isolation of a sesquiterpenoid, four lignans and a sterol glycoside. Their chemical structures were determined to be chamigrenal, gomisin A, gomisin H, gomisin N, schizandrin and daucosterol. Among them, schizandrin and daucosterol inhibited GABA degradative enzymes, succinic semialdehyde dehydrogenase and succinic semialdehyde reductase, respectively. It is postulated that the schizandrin and daucosterol are able to elevate the neurotransmitter GABA levels in central nervous system by inhibitory action on GABA degradative enzymes and act as anticonvulsant drugs.

Key words: *Schizandra chinensis*, anticonvulsant, succinic semialdehyde dehydrogenase, succinic semialdehyde reductase, lignan, chamigrenal, daucosterol

*Corresponding author