

과체 성분의 간질환 모델에서의 효과

최선희*# · 이석용 · 조태순

성균관대학교 약학부, *서울특별시보건환경연구원

(Received January 10, 2000)

Effects of the Constituents of *Melonis Pedicellus* in the Animal Models of Hepatic Diseases

Seon-Hee Choi*#, Seok-Yong Lee and Tai-Soon Cho

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

*Seoul Metropolitan Government Institute of Health and Environment, Seoul 137-130, Korea

Abstract — In order to investigate the hepatoprotective constituents, *Melonis Pedicellus* was systematically extracted and fractionated with n-hexane, ethyl acetate, butanol and water. Treatment of rats with ethyl acetate fraction reduced hepatic injuries induced by α -naphthylisothiocyanate or D-galactosamine, whereas the components in water fraction showed protective effect only against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. Two cucurbitacins and three sterols were isolated from ethylacetate fraction and their chemical structures were identified as cucurbitacin B, isocucurbitacin B, α -spinasterol, stigmast-7-en-3-ol and stigmast-7-en-3-ol-O- β -D-glucopyranoside. Cucurbitacin B at the dose of 1 mg/kg (p.o.) significantly increased in bile flow in rats with ANIT-induced cholestasis. Isocucurbitacin B at 5 mg/kg (p.o.) showed significant protective effects against ANIT-induced cholestasis. These results showed that cucurbitacin B and isocucurbitacin B from *Melonis Pedicellus* may have hepatoprotective effect in rats with experimental cholestasis.

Keywords □ *Melonis Pedicellus*, *Cucumis melo*, hepatoprotective constituents

간장질환은 바이러스, 알코올, 약물, 독성물질 등의 여러 원인에 의하여 유발되어 간세포의 손상과 간기능의 저하를 가져온다. 이러한 다양한 원인에 의해 유발된 간질환들은 간세포 파괴에 의한 해독능력의 저하와 담즙분비 억제에 의한 독성물질의 배설장애, vitamin B₁, B₂ 및 C 등의 흡수억제 및 축적저하에 의한 전신권태감, 소양감, 식욕부진, 피로 등의 임상증상을 나타낸다. 간질환 치료에 있어서 일반적인 치료 유형에는 간세포 재생촉진, 간기능 보호, 독성물질의 배설촉진 및 임상증상의 개선 등이 있으며, 이러한 목적으로 사용되어 온 약물로는 ursodeoxycholic acid, silymarin, glutathione, glycyrrhizin, vitamins, biphenyl dimethyl

dicarboxylate 등이 있다.

瓜蒂(*Melonis Pedicellus*)는 동남아시아 각지에서 재배되고 있는 *Cucumis melo* L.(*Cucurbitaceae*) 및 동속동종식물 품종의 열매꼭지로 6~7월에 미숙한 참외를 따서 꼭지를 잘라 그늘에서 건조한 것이다.¹⁾ 한방에서는 風熱痰涎을 토해내게 하는 涌吐藥으로 분류되어 있으며, 千金翼方, 類證活人書 등의 문헌에서는 瓜蒂를 研末하여 吹鼻하는 방법으로 濕熱黃疸의 치료에 사용한다고 되어있다. 또 금궤요략에서는 ‘一物瓜蒂湯’을 내복함으로써 夏月의 冷水에 상했을 때의 水行皮中과 身熱痛重의 맥이 미약해졌을 때와 여러 종류의 黃疸를 치료한다고 되어있다.²⁾

동물실험에서 과체는 경구투여시 위점막 자극 작용으로 인해 최토작용을 일으키나 비경구투여시에는 최토효과가 없으며, 간치료효과로는 사염화탄소 중독에

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-570-3242 (팩스) 02-570-3311

대한 보호효과, glycogenesis 증가 등이 보고되어 있다. 그 성분으로는 cucurbitacin B, E, Δ^7 -stigmastanol-(3 β)-acetate등이 알려져 있다.³⁻⁶⁾

임상에서는 중의학에서 약물중독, 食傷치료에 최토제로서 사용되고 있으며, 黃疸의 감소, toxic hepatitis 등의 치료효과가 우수하여 慢性肝炎, 肝硬變 등의 치료에 응용되고 있다.⁷⁻⁸⁾

본 연구는 瓜蒂가 옛부터 黃疸 등의 치료에 민간에서 응용되어 왔으나 그의 효과, 성분 및 작용기전 등에 대한 연구가 거의 알려져 않아 이에 저자 등은 瓜蒂를 에탄올로 추출한 후 n-hexane, ethyl acetate 및 butanol로 분획하고, 각 분획에 대하여 다양한 肝疾患모델을 이용하여 약효를 검색하였으며, 이 중 활성을 나타낸 EtOAc분획으로부터 유효성분의 분리를 시도하여 cucurbitacins과 phytosterols을 분리 동정하고, 분리된 cucurbitacins에 대하여 ANIT유발 담즙울체모델에서의 약효를 검토하여 일부 지견을 얻었기에 보고한다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용한 과체(*Melonis Pedicellus*, the fruit base of *Cucumis melo*)는 경동시장에서 구입하여 기원을 확인한 후 사용하였다.

실험동물

실험동물은 체중 20~25 g의 ICR계 수컷 생쥐와 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 및 암컷 흰쥐를 삼육실험동물연구소로부터 공급받아 온도 20±2°C, 습도 50±10%의 동물사육실에서 일주일이상 적응시킨후, 일반상태를 관찰하여 외관상 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였다.

추출 및 분획

과체 2 kg을 에탄올로 6시간씩 3회 가온추출후 여과하고 여액을 모아 감압농축하여 EtOH Ex.를 얻었다. 이 EtOH Ex.에 증류수를 가하여 현탁시키고 분액여두에 넣어 순차적으로 분획하여 n-hexane 분획, ethyl acetate 분획, butanol 분획, water 분획으로 나누어 감압농축한 후 냉동건조기로 완전 동결건조시켰다. EtOH Ex.은 210 g, n-hexane 분획은 16 g,

ethyl acetate 분획은 61 g, butanol 분획은 47 g, 그리고 water 분획은 82 g을 얻었다.

성분의 분리

과체 EtOH Ex.를 상법으로 처리하여 얻은 EtOAc 분획 50g을 silica gel column chromatography(solvent: chloroform → methanol 1:0 → 1:4)를 실시하여 E1 → E7의 분획을 얻었다. 이 중 활성을 나타낸 E2를 Sepadex LH-20 column chromatography(solvent: methanol)를 실시하여 세 개의 소분획으로 나누었으며 이 중 소분획 2를 농축한 후 MeOH로 반복 재결정하여 백색의 침상결정 100 mg을 얻었다. 이 결정을 chloroform에 녹인 후 pre-TLC(이동상: CHCl₃:Aceton (7:1))을 이용하여 compound I(15 mg), II(50 mg)를 분리하였다. 또한 E1과 E5분획을 각각 감압농축한후 chloroform/methanol로 반복 재결정하여 compound III(100 mg), IV(15 mg)를 분리하였다.

Compound I의 물리화학적 성상 - 백색의 침상 결정, mp:183°C Liebermann-Burchard test: positive, $[\alpha]_D^{20}$: +85°(c=0.1, 95% EtOH), IR v_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3450(OH), 2919(C-C), 1690(C=O), 1630(C=C), 1260(C-O-C), EIMS(70eV, m/z): 498(M⁺-60), 111, 96(base peak), ¹H-NMR(300MHz, CDCl₃) δ : 1.00(3H, s, H-18), 1.10(3H, s, H-30), 1.30(3H, s, H-29), 1.34(3H, s, H-28), 1.36(3H, s, H-21), 1.44(3H, s, H-19), 1.56(3H, s, H-26), 1.58(3H, s, H-27), 2.03(3H, s, CH₃COO), 4.37(1H, m, H-16), 4.43(1H, dd, H-2), 5.78(1H, m, H-6), 6.47(1H, d, J=15.6Hz, H-23), 7.06(1H, d, J=15.6Hz, H-24)

¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃) δ : Table I.

Compound II의 물리화학적 성상 - 백색의 침상 결정, mp:223°C, Liebermann-Burchard test: positive, $[\alpha]_D^{20}$: +40° (c=0.1, CHCl₃) IR v_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3450(OH), 2918(C-C), 1690(C=O), 1630(C=C), 1260(C-O-C), EIMS(70eV, m/z): 498(M⁺-60), 111, 96(base peak), ¹H-NMR(300MHz, CDCl₃) δ : 0.81(3H, s, H-18), 0.97(3H, s, H-19), 1.18(3H, s, H-29), 1.26(3H, s, H-28), 1.33(3H, s, H-30), 1.41(3H, s, H-21), 1.54(3H, s, H-26), 1.55(3H, s, H-27), 2.00(3H, s, CH₃COO), 3.90(1H, br. s., H-3), 4.35(1H, m, H-16), 5.94(1H, m, H-6), 6.46(1H, d, H-23), 7.07(1H, d, H-24), ¹³C-NMR(75MHz, CDCl₃)

Table I - ^{13}C -NMR spectral data of compound I and II

Carbon No.	Compound I	Compound II
1	36.4	38.8
2	72.0	210.6
3	213.4	80.2
4	50.6	46.7
5	140.7	138.2
6	120.8	121.9
7	24.2	23.9
8	42.7	42.8
9	48.6	48.4
10	34.1	36.3
11	212.5	211.9
12	48.8	48.6
13	50.9	48.0
14	48.3	50.6
15	45.7	45.3
16	71.7	71.3
17	58.6	58.1
18	20.2	19.9
19	20.4	18.8
20	78.6	78.2
21	24.2	23.8
22	202.8	202.4
23	120.8	120.3
24	152.3	152.0
25	79.7	79.3
26	26.8	26.4
27	26.3	26.0
28	29.5	21.0
29	22.3	24.1
30	19.3	20.1
OCOMe	170.6	170.2
O ₂ CCH ₃	22.3	21.9

δ : Table I.

Compound III의 물리화학적 성상 - 백색의 침상 결정, mp: 141~142°C, Liebermann-Burchard test: positive, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3440(OH), 2917(C-C), 1650(C=C), 1020(C-O), $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl₃) δ : 0.52(6H, s, H-18), 0.77~0.83(30H, m, H-19, H-21, H-26, H-27, H-29) 3.60(2H, m, H-3), 5.01(1H, dd, J=15.4, 7.8Hz, α -spinasterol H-22), 5.13(3H, m, H-7, α -spinasterol H-23)

Compound IV의 물리적 성상 - 백색의 무정형 결정, mp: 282°C(degradation), Liebermann-Burchard test: positive, Molish test: positive, IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3400(OH), 1075, 1050, 1027(C-O), EIMS(70eV, m/z): 576(M⁺), 414, 397, 300, 55(base peak), $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, Pyridin-d₅) δ : 0.58~0.95(18H, m, H-18, H-19, H-21, H-26, H-27, H-29) 5.04(d, J=7.7Hz, H-1'), 5.17(m, H-7)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, Pyridin-d₅) δ : 14.0(C-18), 14.5(C-29), 15.0(C-19), 21.2(C-21), 21.7(C-26), 21.9(C-27), 23.7(C-11), 25.3(C-15), 25.4(C-28), 28.5(C-23), 30.2(C-25), 30.2(C-16), 31.5(C-6), 32.0(C-2), 36.5(C-22), 36.7(C-10), 39.0(C-1), 39.3(C-20), 41.7(C-12), 42.1(C-5), 45.5(C-13), 48.0(C-24), 51.6(C-9), 57.2(C-14), 58.3(C-17), 73.8(C-3), 119.8(C-7), 141.5(C-8), 104.2(C'-1), 77.3(C'-2), 80.6(C'-3), 73.8(C'-4), 79.1(C'-5), 64.9(C'-6)

Compound IV의 산 가수분해

Compound IV 5 mg을 5N-HCl 1 ml와 95% 1,4-dioxane 1.5 ml의 혼액을 가하고 수욕상에서 환류하에 2 시간 가열한 후 반응액에 빙수를 가해 석출되는 침전을 여과하고 methanol로 재결정하여 당 부분을 떼어낸 aglycone을 얻었다. 침전을 제거한 수층은 과량의 BaCO₃를 가해 중화한 후 여과, 농축하고 precoated cellulose plate상에서 당 표준품과 비교 TLC(전개용매: pyridine: EtOAc: HOAc=36:36:7:21)하여 D-glucose임을 확인하였다. 가수분해하여 얻은 aglycone은 chloroform에 용해시킨 후 같은 방법으로 처리한 표준품과 함께 GC/MS를 실시하여 stigmast-7-en-3-ol임을 확인하였다.

간질환 모델을 이용한 과체 EtOH ex.의 약효 검색

CCl₄ 간장해 - SD계 흰쥐 수컷에 CCl₄: olive oil (1:4 v/v)을 체중 100 g당 0.2 ml씩 복강내 투여하고, 48시간 후에 채혈하여 원심분리한 후 혈청을 취해 ALT(alanine aminotransferase) 및 AST(aspartate aminotransferase)활성을 측정하였다. 각 시험물질은 16시간 절식후 CCl₄혼합액 투여 전 2시간, 투여 후 6, 22, 28시간 간격으로 0.5% carboxymethyl cellulose-Na(이하 CMC) 용액에 현탁시켜 경구투여하였다. 양성 대조 약물로는 silymarin 100 mg/kg을 사용하였다.

D-galactosamine 간염

SD계 흰쥐 수컷에 생리식염수에 용해시킨 D-galactosamine · HCl을 400 mg/kg씩 복강내 투여하고 24시간 경과 후 채혈하여 원심분리한 후 혈청을 취해 ALT 및 AST활성을 측정하였다. 각 시험물질은 16시간 절식후 D-galactosamine용액 투여 30분전 및 투여 후 8시간 간격으로 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 경구

투여하였다. 양성 대조약물로는 silymarin 100 mg/kg 을 사용하였다.

담즙유체

SD계 흰쥐 수컷에 ANIT(α -naphthylisothiocyanate) 를 olive oil에 현탁시켜 80 mg/kg씩 경구투여하였다. 시험물질은 ANIT투여 전 2시간, 투여 후 6, 22, 28 시간 간격으로 4회 경구투여하였으며, 양성 대조물질로는 UDCA(이하 ursodeoxycholic acid) 50 mg/kg를 사용하였다. ANIT투여 후 47시간 후에 1시간 동안 담즙을 채취하여 담즙량으로 산출하였으며, 48시간째 채혈하여 혈청내 총 bilirubin량을 bilirubin kit(아산제약)로 측정하였고, 담즙 중 담즙산량도 Irvin법⁹⁾에 따라 측정하였다.

지방간

SD계 흰쥐 암컷에 D, L-ethionine을 생리식염수에 녹여 200 mg/kg씩 피하주사하였으며, 시험물질은 ethionine 투여 전 4시간 및 투여 후 6시간에 2회 경구투여 하였다. ethionine 투여 24시간 경과 후에 ether마취하에 간을 떼어내고 1.15% KCl 용액으로 균질화시킨 후 3000 rpm에서 10분 원심분리하여 얻은 상등액을 가지고 간장내 총지질량은 Frings법¹⁰⁾으로, 중성지방량은 triglyceride kit(Sigma chemical co., USA)를 사용하였고, 총콜레스테롤량은 Liebermann-Burchard 반응을 이용하여 측정하였다.

약물중독

ICR계 수컷 생쥐에 acetaminophen(35 mg/ml, NaOH로 pH 10.6으로 조정) 350 mg/kg을 복강내 투여하고 24시간 경과후 혈액을 채취하여 혈청내 ALT 및

AST 활성을 측정하였다. 약물 처치는 Ethionine 유발 지방간 실험항목과 동일하게 실시하였다.

실험결과 및 고찰

과체 EtOH ex.의 간질환모델에 대한 활성

체내로 흡수된 사염화탄소는 간장내 약물대사효소계인 cytochrome P₄₅₀계에 의해 CCl₃(trichloromethyl radical)로 전환되어 간중심부 괴사(centrilobular necrosis), 단백합성억제, 지방변성 등을 야기시켜 간독성을 일으킨다고 알려져 있으며,¹¹⁾ acetaminophen은 과량 섭취시 glutathione의 저장고를 고갈시키고, 그의 대사물이 hepatic macromolecules과 결합함으로써 세포괴사를 일으킨다고 알려져 있다.¹²⁾ CCl₄와 acetaminophen에 의한 간질환 모델에서 과체 EtOH ex.는 ALT 및 AST활성이 수치상 다소 감소하였으나 유의성은 없었다(data는 제시하지 않았음).

Ethionine은 간장내 ATP농도를 고갈시켜 간독성을 유발시키고, 특히 각 간세포내에 많은 양의 지방소적을 축적시켜 미세수포 지방증(microvesicular steatosis)을 일으킨다고 알려져 있다.¹³⁻¹⁴⁾ 본 실험에서 과체 EtOH ex.는 ethionine에 의해 유발된 지방간모델에서 유의성 있는 효과가 없었다(data는 제시하지 않았음).

D-galactosamine은 아미노당으로서 간세포내에서 대사되는 과정에서 UMP, UDP 및 UTP를 과도하게 소비시켜 결국 uracil-dependent RNA synthesis를 억제하여 단백질합성의 억제와 세포막 구조의 변형을 가져오게 되어 바이러스성 간염과 유사한 형태의 세포괴사를 일으킨다고 알려져 있다.¹⁵⁾ Table II에서 보는 바같이 음성 대조군은 D-galactosamine 투여 후 혈청내 ALT

Table II - The preventive effects of *Melonis Pedicellus* extracts on ALT and AST in D-galactosamine-induced hepatitis

Group	Dose (mg/kg)	ALT(IU/L)	AST (IU/L)
Normal	-	12.5 ± 4.5	72.7 ± 17.3
D-galactosamine	-	916.7 ± 110.6 ⁺⁺⁺	1041.6 ± 169.4 ⁺⁺⁺
D-galactosamine + Silymarin	100	443.6 ± 135.3*	596.8 ± 83.0*
D-galactosamine + EtOH fr.	3	593.5 ± 53.5*	643.5 ± 29.1*
D-galactosamine + Hexane fr.	3	627.4 ± 122.1	765.3 ± 109.9
D-galactosamine + EtOAc fr.	3	461.5 ± 144.2*	562.1 ± 102.6*
D-galactosamine + BuOH fr.	3	658.5 ± 145.1	664.1 ± 136.6
D-galactosamine + H ₂ O fr.	3	470.6 ± 79.9*	564.0 ± 72.4*

Each value represents mean ± S.E.M. for 7 to 9 rats per group. Significantly different from the control group: * p<0.05, Significantly different from the normal group: ⁺⁺⁺p<0.001

및 AST활성이 정상 흰쥐에 비해 매우 높게 증가하였다(각각 916.7 ± 110.6 , 1041.6 ± 169.4 IU/L). 이렇게 증가된 ALT 및 AST치는 양성대조약물인 silymarin투여군과 EtOAc분획과 H₂O 분획 투여군에서 유의성 있게 억제되었다.

ANIT로 유발되는 담즙울체상태(Cholestatic state)에 관한 연구는 오래 전부터 연구되어 왔으나 그 기전이 여전히 불분명하고, 최근에는 ANIT가 담관 내의 tight junction의 투과성을 증가시켜 담즙성분을 혈관 내로 역류시킴으로써 담즙울체를 일으킨다고 알려져 있다.¹⁶⁾ 과체의 EtOAc분획은 ANIT에 의한 담즙울체 모델에서 양성대조군으로 사용한 UDCA 50 mg/kg보다 담즙분비증가, 혈중 총bilirubin치 감소를 나타내었다(Table III).

위의 실험결과를 통해 과체 EtOH ex.는 여러 간질환 모델 중 D-galactosamine 간염과 ANIT유발 담즙울체모델에서 효과가 있으며, 특히 과체의 EtOAc분획은 ANIT 유발 담즙울체모델에서 다른 분획에 비해 현저한 효과를 나타내어 활성분획으로 추정되었다. 따라서 이하 실험에서는 EtOAc분획을 silica gel column chromatography를 통하여 소분획하고 이들 분획에 대

해 ANIT 유발 담즙울체모델에서의 효과를 검색함으로써 유효성분의 분리를 시도하였다.

EtOAc 분획의 담즙울체모델에서의 활성

다양한 간질환모델을 이용한 과체의 EtOH ex. 및 분획물에 대한 1차 스크리닝 중 ANIT유발 담즙울체 모델에서 현저한 약효를 나타낸 ethyl acetate분획을 silica gel column chromatography 하여 얻은 7개의 소분획에 대하여 비례용량을 설정하고 ANIT유발 담즙울체실험을 실시하여 Table IV의 결과를 얻었다.

소분획 E2는 대조군과 비교할 때 유의성 있는 담즙분비량의 증가, 혈중 빌리루빈치의 감소, 담즙산량의 증가를 나타내어 ANIT유발 담즙울체 모델에서 효과적임을 알 수 있었다. 소분획 E1은 담즙분비량과 담즙산량이 유의성 있게 증가하였고, 소분획 E5는 담즙산량이 유의성 있게 증가하였으며, 나머지 소분획들도 수치상 control보다 담즙분비량 및 담즙산량의 증가하고, 황달의 지표로 사용되는 혈중 빌리루빈치가 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다.

Table III – Effects of *Melonis Pedicellus* extracts on ANIT-induced cholestasis

Group	Dose (mg/Kg)	Bile Flow (ml/hr/100g b.wt.)	Total Bilirubin (mg/dl)	Cholic Acid (mg/hr/100g b.wt.)
Normal	-	303.0 ± 57.0	0.5 ± 0.1	3.72 ± 0.64
ANIT +	-	28.9 ± 6.0 ⁺⁺⁺	8.4 ± 1.2 ⁺⁺⁺	0.33 ± 0.09 ⁺⁺⁺
ANIT + UDCA	50	56.4 ± 4.9 ^{**}	5.9 ± 1.0	0.74 ± 0.14 ^{**}
ANIT + EtOH fr.	3	75.6 ± 5.7 ^{**}	5.2 ± 0.5 [*]	1.92 ± 0.36 [*]
ANIT + Hexane fr.	3	27.4 ± 5.2	6.3 ± 1.0	0.21 ± 0.07
ANIT + EtOAc fr.	1	81.4 ± 19.8 [*]	7.1 ± 1.4	2.38 ± 0.16 ^{**}
ANIT + EtOAc fr.	3	134.6 ± 19.7 ^{***}	2.7 ± 0.8 ^{***}	2.77 ± 0.42 ^{***}
ANIT + BuOH fr.	3	59.1 ± 9.3 [*]	8.8 ± 1.2	1.15 ± 0.33 [*]
ANIT + H ₂ O fr.	3	51.3 ± 10.0	8.3 ± 1.1	1.17 ± 0.42

Each value is mean ± S.E.M. for 6 to 8 rats per group. Significantly different from control group: *p<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, Significantly different from normal group: ⁺⁺⁺P<0.001.

Table IV – Effects of subfractions of ethyl acetate fraction of *Melonis Pedicellus* on ANIT-induced cholestasis

Group	Dose (mg/Kg)	Bile Flow (μl/hr/100g b.wt.)	Total Bilirubin (mg/dl)	Cholic Acid (mg/hr/100g b.wt.)
Control	-	21.3 ± 3.2	10.3 ± 1.9	0.21 ± 0.05
E1	0.03	38.2 ± 5.7 [*]	8.7 ± 1.0	0.60 ± 0.23 [*]
E2	2.38	43.3 ± 3.8 ^{**}	6.3 ± 0.9 [*]	0.77 ± 0.19 [*]
E3	0.35	33.6 ± 6.3	8.4 ± 0.9	0.23 ± 0.10
E4	1.14	39.8 ± 12.3	8.1 ± 1.1	0.54 ± 0.25
E5	0.44	36.7 ± 20.1	8.0 ± 1.5	0.63 ± 0.37 [*]
E6	0.27	36.2 ± 17.2	7.3 ± 2.0	0.80 ± 0.53
E7	0.32	18.9 ± 8.3	9.6 ± 0.5	0.21 ± 0.08

Each value is mean ± S.E.M. for 6 rats per group. Significantly different from control group: *p<0.05. **P<0.01

분리한 성분의 구조

물리화학적, 분광학적 자료를 종합한 결과 compound I은 cucurbitacin B(25-(acetyloxy)-2,16,20-trihydroxy-9-methyl-19-norlanosta-5, 23-diene-3, 11, 22-trione), compound II는 isocucurbitacin B(25-(acetyloxy)-3,16,20-trihydroxy-9-methyl-19-norlanosta-5, 23-diene-2, 11, 22-trione)으로 동정하였다. compound III는 표품과 함께 GC/MS를 실시하여 α -spinasterol과 stigmast-7-en-3-ol의 5:2 혼합물임을 확인하였고, compound IV는 stigmast-7-en-3-ol-O- β -D-glucopyranoside으로 동정하였으며, 이들 물질에 대한 기존 문헌¹⁷⁻²⁹⁾의 기기분석 데이터와 비교 검토한 결과 잘 일치하는 것을 확인할 수 있었다.

순수 분리성분의 ANIT 유발 담즙울체 모델에서의 효과

EtOAc층의 소분획중 ANIT유발 담즙울체 모델에서 유의성있게 간보호효과를 나타낸 소분획 E2에서 순수 분리된 성분인 cucurbitacin B와 isocucurbitacin B에 대하여 ANIT유발 담즙울체 모델에서의 효과를 알아보았다. cucurbitacin B는 0.1, 0.5, 1 mg/kg의 용량에서 투여용량에 따라 담즙 분비량 및 담즙산량의 증가와, 혈중 빌리루빈치의 감소를 나타내었으며, 특히 1 mg/kg에서 유의성 있게 담즙분비량의 증가를 나타내었다. isocucurbitacin B는 실험에 사용한 0.1, 1, 5 mg/kg의 용량중 5 mg/kg에서 ANIT 투여군보다 3배 이상의 담즙분비량 증가와 10배 가량의 담즙산량의 증

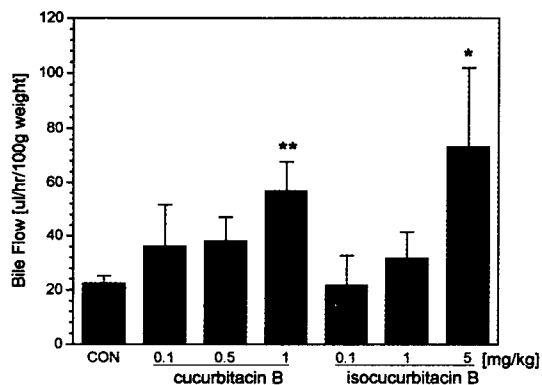


Fig. 1—Effects of the compounds obtained from *Melonis Pedicellus* on Bile flow in ANIT-induced cholestasis. Each value represents the mean \pm S.E. Significantly different from the control: * P <0.05, ** P <0.01.

가를 나타내었으며, 혈중 빌리루빈치도 대조군에 비해 40%이상 감소하여 ANIT유발 담즙울체 모델에서 효과적으로 간보호 작용을 나타내었다(Fig. 1, 2, 3).

이상의 실험 결과로부터 과체(*Melonis Pedicellus*)는 다양한 간질환 모델중 특히 ANIT유발 담즙울체모델에서 담즙분비량 및 담즙산량의 증가, 혈중 빌리루빈치 감소의 효과가 있었으며, 이들 효과는 cucurbitacin B와 isocucurbitacin B에 기인하는 것으로 사료되어 이들 성분의 작용기전에 대한 보다 많은 연구가 이루어

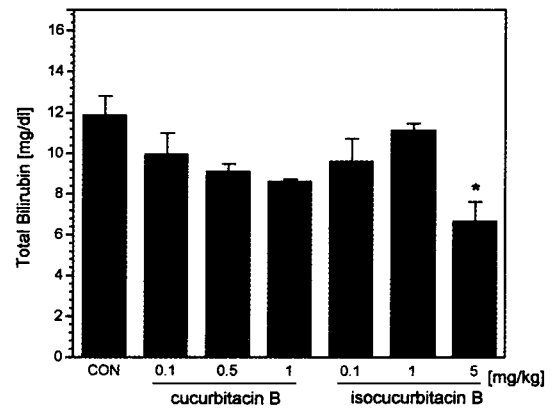


Fig. 2—Effects of the compounds obtained from *Melonis Pedicellus* on serum total bilirubin in ANIT-induced cholestasis. Each value represents the mean \pm S.E. Significantly different from the control: * P <0.05.

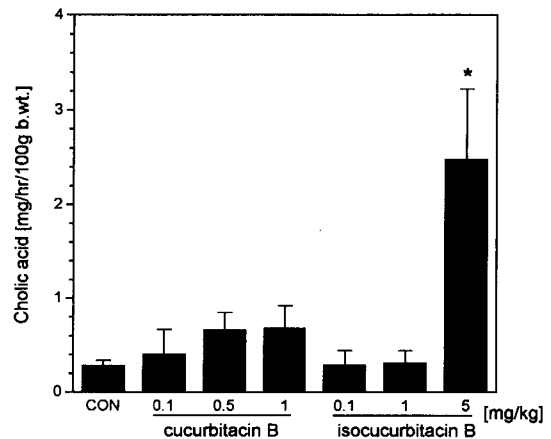


Fig. 3—Effects of the compounds obtained from *Melonis Pedicellus* on cholic acid in ANIT-induced cholestasis. Each value represents the mean \pm S.E. Significantly different from the control: * P <0.05.

어려야 할 것으로 사료된다.

결 론

과체 EtOH ex.를 n-hexane, ethyl acetate, butanol, water분획으로 나누고 다양한 간질환모델을 이용하여 약효를 검색한 결과, ethyl acetate분획은 ANIT 유발 담즙울체모델과 D-galactosamine 간염모델에서, water분획은 D-galactosamine 간염 모델에서 유의성 있는 효과를 나타내었다.

활성분획으로 사료된 ethyl acetate 분획으로 부터 compound I, II, III, IV를 얻었으며, IR, NMR, MS 등의 spectral data로부터 compound I은 cucurbitacin B로, compound II는 isocucurbitacin B로, compound III는 α -spinasterol과 stigmast-7-en-3-ol의 5:2 혼합물로 확인되었고, compound IV는 stigmast-7-en-3-ol-O- β -D-glucopyranoside로 확인되었다. 순수 분리성분인 cucurbitacin B와 isocucurbitacin B에 대하여 ANIT유발 담즙울체 모델을 실시한 결과, cucurbitacin B는 경구투여용량 1 mg/kg에서 유의성 있게 담즙분비량을 증가시켰고, isocucurbitacin B는 경구투여용량 5 mg/kg에서 유의성 있게 담즙 분비량 및 담즙산량의 증가와 혈중 총 빌리루빈치의 감소를 나타내어 이들 성분이 과체의 실험적 황달증상의 완화에 기여하는 것으로 사료된다.

문 헌

- 대한약전의 생약규격집 (87-86호), 63 (1987).
- 본초학, 대한약사회, p. 874 (1995).
- 猪子吉人: 漢藥 과체의 의학적 연구, 東医 8, 1 (1894).
- Du Q. Z., Xiong X. P. and Ito Y.: Separation of cucurbitacin B and cucurbitacin E from fruit base of *Cucumis melo* L. by high-speed countercurrent chromatography. *ACS Symp. Ser.* 593, 107 (1995).
- Terauchi H., Takemura S., Kamiya Y. and Ueno Y.: Steroids from *Cucumis melo* L. var *Makuwa* Makino and *Cucumis sativus* L. *Chem. Pharm. Bull.* 18(1), 213 (1970).
- 高橋順太郎: 한약 과체의 화학적 연구. 東藝 8, 713 (1894).
- Huang K. C.: The pharmacology of chinese herbs, CRC press, p195 (1993).
- Hu R. S., Peng Y. G., Chen B. Y. and Chen Y. X.: 抗肝炎藥瓜蒂的研究. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 13(10), 13 (1982).
- Irvin J. L., Johnston C. G. and Kopala J.: A photometric method for the determination of cholates in bile and blood. *J. Biol. Chem.* 153, 439 (1944).
- Frings C. G. and Dun R. T.: 21st National Meeting of the Am. Ass. Clin. Chemist. (1969).
- Recknagel R. O. and Glende E. A. Jr.: Carbon tetrachloride hepatotoxicity: An example of lethal cleavage. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 2, 263 (1973).
- Mitchell J. R., Jollow D. J., Gillette J. R. and Brodie B. B.: Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 211 (1973).
- Faber E.: Biochemical pathology *Annal. Rev. Pharmacol.* 11, 71, (1971)
- Hoyumpa A. M. Jr., Green H. L., Dunn G. D. and Schenker S.: Fatty liver: Biochemical and clinical considerations. *Am. J. Dig. Dis.* 20, 1142 (1975).
- Schanne F. A. X., Pfau R. G. and Farber J. L.: Galactosamine-induced cell death in primary cultures of rat hepatocytes. *Am. J. Pathol.* 100, 25 (1980).
- Krell H., Hoecke H. and Pfaff E.: Development of intrahepatic cholestasis by α -naphthylisothiocyanate in rats. *Gastroenterol.* 82, 507 (1982).
- Iida T., Ishikawa T., Tamura T. and Matsumoto T.: Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopic evidence of chondrillasterol isolated from gourd seed oil. *油化學* 29(5), 345 (1980).
- Rubinstein I., Goad L. J., Clague A. D. H. and Mulheirn L. J.: The 220 MHz NMR spectra of phytosterols. *Phytochemistry* 15, 195 (1975).
- Rodriguez J. B., Gros E. G., Bertoni M. H. and Cattaneo P.: The sterols of *Cucurbita moschata* seed oil. *Lipids* 31(11), 1205 (1996).
- Audier H. E. and Das B. C.: Mass spectrometry of tetracyclic triterpenes. *Tetrahedron Lett.* 20, 2205 (1966).
- Velde V. V. and Lavie D.: ^{13}C NMR Spectroscopy of cucurbitacins. *Tetrahedron* 19(2), 317 (1983).
- Jacobs H., Singh T., Reynolds W. F. and McLean S.: Isolation and ^{13}C -NMR assignments of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia Racemosa* and *Gurania subumbellata*, *J. Nat. Prod.* 53(6), 1600

- (1990).
- 23) Kitajima J. and Tanaka Y.: Studies on the constituents of *Trichosanthes* Root. I. Constituents of roots of *Trichosanthes kirilowii* Maxim var. *japonicum* Kitam. *Yakugaku Zasshi* **109**(4) 250 (1989).
- 24) Stuppner H., Kahlig H., Seligmann O. and Wagner H.: Minor cucurbitacin glycosides from *Picrorhiza kurrooa*. *Phytochemistry* **29**(5), 1633 (1990).
- 25) Kitajima J., Mukai A., Masuda Y., and Tanaka Y.: Studies on the constituents of *Trichosanthes* Root. III. Constituents of roots of *Trichosanthes bracteata* Voigt. *Yakugaku Zasshi* **109**(4), 265 (1989).
- 26) Arisawa M., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D., Cordell G. A. and Farnsworth N. R.: Plant anticancer agent XXX: Cucurbitacins from *Ipomopsis aggregata* (polemoraceae). *J. Pharm. Sci.* **73**(3), 411 (1984).
- 27) Ryu S. Y., Lee S. H., Choi S. U., Lee C. D., No Z. and Ahn J. W.: Antitumor activity of *Trichosanthes kirilowii*. *Arch. Pharm. Res.* **17**(5), 348 (1994).
- 28) Lin H. K., Langenbach R. J. and Knoche H. W.: Sterols of *Uromyces phaseoli* uredospores. *Phytochemistry* **11**, 2319 (1972).
- 29) Ulubelen A.: Δ^7 -stigmasteryl-3 β -D-glucoside from *Styrax officinalis*. *Planta Med.* **30**, 221 (1976).