

Verbascoside의 생리활성

임동술, 유승조,¹ 이숙연*

삼육대학교 의약학부 약학과, ¹성균관대학교 약학대학 약학과

Biological Activities of Verbascoside from *Pedicularis resupinata* var. *oppositifolia*

Dong Sool Yim, Seung Jo Yoo¹ and Sook Yeon Lee*

Department of Pharmacy, Sahn Yook University, Seoul 139-742, Korea; and

¹College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract - Verbascoside has inhibition activity on carrageenan induced edema in rat paw, enhancement of bile juice secretion, and hepatoprotective activity. The hepatoprotective functions were improved on serumtransaminase activities (s-GPT and s-GOT), liver weight, and even sleeping time in mice treated with verbascoside. In addition, the mice toxicated with carbon tetrachloride are significantly recovered by the administration of verbascoside. This is the first report shown their biological activity of verbascoside.

Key words - Verbascoside; phenylpropanoid glycoside; *Pedicularis resupinata* var. *oppositifolia*; Scrophulariaceae.

전보^{1,2)}에 이어 마주송이풀의 주성분으로 분리된 verbascoside는 phenylpropanoid glycoside에 속하는 화합물로 차전자, 연교, 지황, 능소화등 다양한 식물에서 보고되었다.³⁻⁵⁾

Verbascoside는 일명 acteoside로 불리우며 이미 알려진 생리활성으로는 cytotoxic activity, 항균 작용, 면역 억제 활성, c-AMP Phosphodiesterase의 저해 활성, lense-aldoase reductase의 저해 활성, 항산화 활성, superoxide anion scavenger, antianoxia 활성, protein kinase C 저해 활성등 다양한 생리활성이 보고되어졌다.⁶⁻⁹⁾ 또한 최근에는 이 물질의 생성을 위한 조직배양이 진행되고 있다.¹⁰⁾

저자 등은 전보에²⁾ 이어 마주송이풀의 주성분인 verbascoside의 생리활성을 검토하여 소염활성작용과 담즙분비 촉진작용 및 간장보호작용의 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료 및 실험동물 - 전보²⁾에서 분리한 verbascoside를 실험재료로 사용하였다. 실험동물로 mouse는 ICR계의 체중 20±5 g, rat는 Sprague-Dawley계 체중 200±20 g것을 온도 20±2℃에서 2주일 이상 사육하여 적응시킨 후 따로 언급이 없는 한 고형사료(삼양사료Co.) 및 수도물을 충분히 공급하였다.

시약 및 기기 - 추출, 분획 및 Column용 용매는 1급 시약(E.P)을 사용하였으며 재결정 및 확인시험 용으로는 특급시약을 사용하였고 Carrageenan은 lambda-carrageenan(Sigma, U.S.A)을 사용하였다. sodium carboxymethyl cellulose(CMC)는 (Juncei Chemical Co.Japan)을 사용하였고 Aspirin은 영진약품에서, Ursodeoxycholic acid (UDCA)는 종근당에서 제공받아 사용하였고 Hexobarbital sodium은(Sigma, U.S.A)를 사용하였

*교신저자 : Fax 02-948-5370

다. 소염활성의 족부종 측정에는 Plethysmometer(Comerio-Varese Type 7150), 그리고 간보호 작용의 serum transaminase 측정에 Automatic blood analyzer(COBAS MIRA)를 각각 사용하였다.

항부종작용 - 웅성 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 Winter 등의 방법¹¹⁾에 따라 carrageenan 항 부종 작용 실험을 실시하였다. 먼저 흰쥐의 발바닥의 용적을 plethysmometer로 측정한 후 검체를 경구 투여하고 30분 후에 발바닥에 1% carrageenan 생리식염수 0.1 ml/rat를 피하주사하여 부종을 유발시키고 1시간 간격으로 5회에 걸쳐 부종의 용적을 측정한 후 검체 투여전 용적을 표준으로 하여 그 증가율을 아래의 식으로 계산하여 부종 억제 정도를 검정하였다. verbascode는 증류수에 녹여 100 mg/kg으로 경구투여하였고 대조약물로는 aspirin 200 mg/kg을 사용하였다.

$$\text{부종증가율}(E) = \frac{(V_t - V_n)}{V_n} \times 100$$

Vt: carrageenan 주사후 일정시간 후의 발의 용적.
Vn: carrageenan 주사직전의 발의 용적.

담즙분비 촉진작용 - 웅성 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 대조군과 물질투여군으로 나누고 각각 경구투여 하였다. urethane마취하에 개복하여 담도내에 polyethylene tube를 삽입하여 20분 간격으로 4시간 동안 담즙을 채취하였다.¹²⁾ verbascode는 증류수에 녹여 100 mg/kg의 용량으로 ursodeoxycholic acid는 신선한 면실유에 녹여 10 mg/kg 용량으로 경구투여하여 1시간 후 부터 20분 간격으로 담즙을 채취하였다.

사염화탄소로 유발된 간장애에 관한 실험 - Scheme I과 같이 mouse 10마리를 한 group으로 하여 시료를 3일간 투여하였다. 간 독성을 일으키기 위해서 0.15 ml/kg의 사염화탄소를 신선한 면실유에 희

석하여 경구투여하였다. verbascode 50 mg/kg 용량으로 증류수에 녹여 각각 경구투여하였다.

수면시간측정 - 각 group에 시료를 경구투여 시작후 3일이 경과후 hexobarbital sodium 75 mg/kg을 생리식염수에 용해하여 mouse에 복강투여 하였다. 수면시간은 정향반사소실시간으로부터 다시 회복되는 시간을 측정하였다.

혈청중 transaminase 활성(s-GPT, s-GOT)의 측정 - 각 group에 시료를 투여시작후 4일이 경과하였을 때 ether로 마취하여 mouse 심장으로 부터 혈액을 채취하여 상온에서 30분 방치후 1,500 rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 혈청중 transaminase의 활성을 s-GPT, s-GOT 측정용 시약(ROCHE Co.)을 사용하여 COBAS MIRA automatic blood analyzer로 측정하였다.

간의 무게측정 - 각 group의 s-GPT, s-GOT의 측정을 위해 혈액을 채취후 간을 적출하여 각 group의 간의 무게를 측정하였다.

결과 및 고찰

항부종작용 - Carrageenan으로 유발시킨 부종에 대한 억제효과에 대한 실험결과는 Table I과 같다. Aspirin 200 mg/kg투여군에서는 carrageenan 주사후 5시간 후에서 유의성(p<0.05)있는 억제 효과가 나타났다. Phenylpropanoid glycoside인 verbascode는 100 mg/kg투여시 전시간대에서 유의성있는 (1, 3, 4, 5 hr p<0.01, 2 hr p<0.05) 부종억제 효과를 나타내었다. phenylpropanoid glycoside인 verbascode가 소염활성작용이 있음을 처음으로 확인할 수 있었다.

담즙분비 촉진작용 - 담즙분비 촉진작용에 대한 결과는 Table II와 같다. verbascode는 100 mg/kg을 경구로 투여한 결과는 거의 전 시간대에 걸쳐 유의성 있는 담즙분비량의 증가 얻을 수 있었다. 경

Scheme I. Experimental schedule for hepatoprotective effect on CCl₄-induced toxicities in mice

Group	Day	1	2	3	4	5	dosage
Normal	-	-	-	1%-CMC	measuring	s-GPT	-
CCl ₄ only	1%-CMC	1%-CMC	CCl ₄	1%-CMC	of sleeping	&	0.15 ml/kg
CCl ₄ +verbascode	verbascode	verbascode	CCl ₄ +verbascode	verbascode	time	s-GOT	50 mg/kg
						checking	

Table I. Effects of each fraction on carrageenan induced edema in rat paw

Fraction	Dose (mg/kg.po)	No. of animals	Increased percentage (M±S.E.M)				
			1	2	3	4	5(hr)
Control	-	6	21.02±2.61	35.76±4.28	43.64±8.07	46.07±8.81	49.12±9.43
Aspirin	200	6	22.81±4.63	22.53±5.40	31.07±6.45	31.14±6.99	26.01±5.06*
Verbascoside	100	6	9.46±1.53*	12.49±0.98*	7.51±2.22**	13.46±1.99**	16.49±1.56*

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

Table II. Effects of each fraction on bile juice secretion

Time Fraction	ml/20 min. (M±S.E)					
	20	40	60	80	100	120
Control	0.11±0.006	0.12±0.008	0.12±0.009	0.11±0.010	0.11±0.009	0.12±0.009
Ctrl(Oil)	0.12±0.002	0.15±0.009	0.13±0.008	0.14±0.008	0.13±0.005	0.13±0.006
UDCA	0.35±0.002**	0.30±0.011**	0.28±0.016**	0.28±0.021**	0.25±0.016**	0.22±0.010**
Verbascoside	0.28±0.012**	0.23±0.007**	0.21±0.004**	0.20±0.010**	0.18±0.005**	0.17±0.013**

Time Fraction	ml/20 min. (M±S.E)					
	140	160	180	200	220	240
Control	0.11±0.008	0.12±0.012	0.11±0.010	0.10±0.013	0.11±0.009	0.11±0.009
Ctrl(Oil)	0.12±0.004	0.11±0.008	0.12±0.013	0.11±0.012	0.12±0.014	0.11±0.007
UDCA	0.20±0.002**	0.20±0.010**	0.20±0.012**	0.19±0.009**	0.18±0.015**	0.17±0.014**
Verbascoside	0.14±0.014	0.16±0.012*	0.16±0.010*	0.15±0.001**	0.14±0.007	0.13±0.004

Ctrl(oil): Oil control. UDCA: Ursodeoxycholic acid. *Significantly different from the control group (p<0.05). **Significantly different from the control group (p<0.01).

구투여후 시간이 경과할수록 담즙분비량이 감소되어 지다가 140분에 유의성이 상실되었다가 160~200분에 유의성(p<0.01)이 회복되었다가 다시 소실되었다. 담즙분비 형태는 완만하지만 지속적으로 분비되어지고 있다.

또한 대표적인 이담성분으로 알려진 ursodeoxycholic acid(UDCA)는 지용성으로 면실유에 현탁시켜 10 mg/kg을 투여한 결과 control group (oil 투여군)에 비해 현저하게 전 시간대에 걸쳐 담즙분비촉진작용을 나타내고 있다.

따라서 phenylpropanoid glycoside인 verbascoside가 담즙분비 촉진작용이 있음을 확인하였고 담즙분비촉진 약물의 개발이 가능하리라 사료된다.

수면시간 연장효과 - Hexobarbital sodium 투여에 의한 수면시간 연장을 측정한 결과는 Table III과 같다. 사염화탄소만 투여한 독성대조군은 1%-CMC 용액만 투여한 정상군의 수면 시간인 26.1분에 비해 41.8분을 나타내어 정상군보다 160%의 연

장시간을 나타내었으며 이는 mouse의 간이 사염화탄소에 의해 손상받았음을 의미하였다. 그러나 verbascoside 투여군에서는 28.4분로 108% 연장시간을 나타내었으나 독성대조군에 비해 간의 손상이 많이 회복됨을 나타내었다.

Transaminase 활성 측정 - 각 group의 혈청중 transaminase(s-GPT, s-GOT)활성 결과는 Table 3과 같다. 사염화탄소만을 투여한 독성대조군은 s-GPT와 s-GOT활성은 각각 140.5 unit, 201.9 unit로 정상군의 활성이 25.8 unit, 35.5 unit와 비교시 현저하게 높은 효소 활성을 나타내었다.

사염화탄소는 간 microsome의 약물대사 효과에 의하여 trichloromethyl free radical이 되어 간 세포막의 단백질과 결합하며 막의 산화반응을 촉진하여 간장해를 일으키고 지질대사의 이상으로 지방간의 생성을 유도하여 효소가 혈중으로 유리되어 높은 효소활성을 나타낸다.^{13,14)}

독성대조군과 비교해서 s-GPT, s-GOT 효소활성은 각각 verbascoside 투여군은 85.4 unit, 107.4

Table III. Effects on CCl₄-induced toxicities in mouse

Group	No. of animals	sleeping time ^a	% of elongation	s-GTP ^b	s-GOT ^b	liver weight ^c	% of gained liverweight
Normal		26.1±3.22	100	25.8±2.08	35.5±3.27	1.58±0.03	100
CCl ₄ only	10	41.8±3.96	160.15	140.5±9.66	201.9±7.89	1.84±0.04	116.45
Verbascoside		28.4±4.02**	108.81**	85.4±4.11**	107.4±7.65*	1.60±0.03	101.26**

*Significantly different from the CCl₄ only group (p<0.05). **Significantly different from the CCl₄ only group (p<0.01). ^aM±S.E. in minutes. ^bM±S.E. in Karmen units. ^cM±S.E. in grams.

unit로 사염화탄소에 의한 간조직의 손상을 방지하였거나 손상된 간조직의 회복을 촉진시켰다고 사료되어진다.

간의 무게 변화-Transaminase 활성 측정후 간을 적출하여 무게 변화를 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 정상군 mouse의 마리당 평균 간무게는 1.58 g이고 독성대조군은 1.87 g으로 독성대조군의 간이 비대되어짐을 확인하였고 verbascoside 투여군은 각각 1.60 g으로 간의 비대가 억제됨을 확인하였다.

위 실험중 담즙분비 촉진작용과 사염화탄소로 유발된 간장해에 관한 실험결과를 보면 phenylpropanoid glycoside 인 verbascoside가 간기능개선 약물의 개발이 가능하리라 사료된다.

결 론

Phenylpropanoid glycoside인 verbascoside의 생리활성을 검색한 결과는 다음과 같다.

1. 흰쥐의 족부중 실험에서 항염증작용이 전 시간대에 걸쳐 유의성있음을 확인할 수 있었다.
2. 담즙분비 촉진작용에 있어 거의 전 시간대에 유의성있음을 확인하였다.
3. 간 보호작용에 있어 수면시간 연장효과, 혈청 transaminase활성 측정, 간의 무게변화에 있어 각각 유의성 있는 결과를 확인할 수 있었다.

인용문헌

1. Yim, D. S., Yoo, S. J. and Lee, S. Y. (1993) Biological activities of *Pedicularis resupinata* var. *oppositifolia*. *Kor. J. Pharmacogn.* 24: 258-262.
2. Yim, D. S., Yoo, S. J. and Lee, S. Y. (1995) Constituents of *Pedicularis resupinata* var. *oppositifolia*. *Kor. J. Pharmacogn.* 26: 109-115.
3. Kitagawa, S., Tsukamoto, H., Hisada, S. and Nishibe, S. (1984) Studies on the chinese crude drug "Forsytiae Fructus". VII. A new caffeoyl glycoside from *Forsytia viridissima*. *Chem. Pharm. Bull.* 32: 1209-1213.
4. Nishibe, S., Sasahara, M., Ying, J. and Tanaka, T. (1991) Phenylpropanoid glycosides from *Planta godepressa*. *Phytochemistry* 32: 975-977.
5. Lee, H. S., Park, M. S., Oh, W. K., Ahn, S. C., Kim, B. Y., Kim, H. M., Oh, K. T., Min, T. I. and Ahn, J. S. (1993) Isolation and biological activity of verbascoside, a potent inhibitor of protein kinase C from the calyx of *Campsis grandiflora*. *Yakhak Hoeji* 37: 598-604.
6. Zhou, Y. C. and Zheng, R. L. (1991) Phenolic compounds and an analogue as superoxide anion scavengers and antioxidants. *Biochem. Pharmacol.* 42: 117-179.
7. Yamahara, J., Kitani, T., Kobayashi, H. and Kawahara, Y. (1990) Studies on *Stachys sieboldii* MIQ. II. Anti-anoxia action and the active constituents. *Yakugaku Zasshi* 110: 932-935.
8. Pettit, G. R., Numata, A., Takemura, T., Ode, R. H., Narula, A. S., Schmit, J. M., Cragg, G. M. and Pase C. P. (1990) Antineoplastic agent, 107. Isolation of acteoside and isoacteoside from *Castilleja linariaefolia*. *J. Nat. Prod.* 53: 456-458.
9. Kohda, H., Tanaka, S., Yamaoka, Y., Yahara, S., Nohara, T., Tamimoto, T. and Tanaka, A. (1989) Studies on lens-aldoase reductase inhibitor in medicinal plant. II. Active constituents of *Monochasma savatierii* Franch. et Maxim. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 3153-3154.
10. Inagaki, N., Nishimura, H., Okada, M. and Mit-suhashi H. (1991) Verbascoside production by plant cell cultures. *Plant cell Rep.* 9: 484-487.
11. Winter C. A., Risley E. A., Nuss G. W. (1962) Carragenin-induced edema in hind paw of rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111: 544-547.

12. Han D. R. (1966) Biochemical studies on the constituents of *Artemisia messer-schmidtiana* Besser var. *viridis* Besser and their derivatives. I. Identification of Esculetin Methylethers and their cholagogic action. *J. Pharm. Soc. Kor.* 10: 20.
13. Mclean A. E. M. (1967) Effect of diet and vitamin E on liver injury due to CCl_4 . *Br. J. Exp. Pathol.*, 48: 632.
14. John Doull, Cutis D. Klassen and Mary O. Amdur (1986) Casarett and Doull's Toxicology 3rd ed. 292 MacMillian, N.Y.

(1997년 11월 20일 접수)