

銀杏成分 Bilobol 의 化學的 및 藥理學的 研究

A Chemical and Pharmacological Study on Bilobol a Component of Ginkgo Biloba L. Fruits

서울대학교 醫科大學 藥理學敎室
<指導 吳 鎭 燮 敎授>

韓 大 燮

目 次

- I. 緒 論
- II. 化學的 實驗
- III. 藥理學的 實驗
 - A. 實驗材料 및 實驗方法
 - B. 實驗成績
- IV. 總括 및 考察
- V. 結 論

I. 緒 論

銀杏(Ginkgo biloba L.)^{1,2)}은 은행나무科(Ginkgoaceae)에 屬하는 植物로서 東亞各地에 自生하는 落葉喬木이다. 銀杏의 種子는 生藥으로서 銀杏, 白果(Ginkgo Semen)이라하며 食用으로 嗜好하기도 한다³⁾.

銀杏에 對한 研究는 Schwarzenbach⁴⁾에 依하여 銀杏의 新鮮한 外種皮에서 ginkgoic acid(C₂₄H₄₈O₂, M.P. 35°C)가 分離되었고 Bechamp⁵⁾는 果汁에서 蟻酸 醋酸 Propion 酸 牛酪酸 Valerian 酸을 分離하였다. Suzuki⁶⁾는 arginine을 分離하였고 Langley⁷⁾도 Suzuki와 같은 結果를 얻었다. 吉村⁸⁾은 銀杏種子에서 糖 澱粉 蛋白質 脂肪 粗纖維 灰分을 分析하였고 1928年 川村⁹⁾은 銀杏의 外種皮에서 ginnol (C₂₇H₅₆O, M.P. 82.5°C) ginkgoic acid (C₂₂H₃₄O₃, M.P. 42-43°C) bilobol (C₂₁H₃₄O₂, M.P. 36-37°C)을 얻었다. 中澤¹⁰⁾은 銀杏葉에서 ginkgetin을 古川¹¹⁾은 葉에서 ginnol을 各各 分離하였다.

銀杏의 外種皮에는 往往 強力한 發泡性 皮膚炎을 일으키는 例가 많다. 이 發泡性은 臭나무의 urushiol의 發泡性과 類似하며 化學構造上으로도 銀杏의 發泡性物質로 認定되는 bilobol은 urushiol의 成分과 같이 pentad-

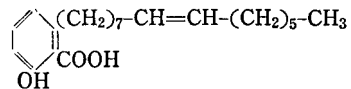
ecenyl dihydroxyphenol 化合物로서^{12,13)} 大端히 類似한데 其 成分은 Table 1과 같다. 이 化學的 構造와 發泡性에 關한 研究에 對하여서는 本敎室에서 1961年 洪¹²⁾은 urushiol에 對한 研究를 한 바 있다.

上述한 바와 같이 銀杏의 化學的 研究報告가 많음에도 不拘하고 銀杏의 發泡性에 對한 詳細한 藥理學的 研究는 報告된 바 없으므로 著者는 銀杏의 發泡性 成分으로 認定되는 bilobol을 銀杏의 外種皮에서 抽出하여 確認하고 이에 對한 藥理學的 實驗을하여 얻은 成績을 茲에 報告하는 바이다.

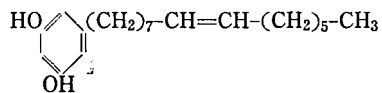
Table 1. Chemical components of flesh of Ginkgo biloba L. fruits

Ginnol C₂₇H₅₆O M.P. 82.5°C.

Ginkgoic acid C₂₂H₃₄O₃ M.P. 42~43°C.

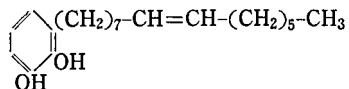


Bilobol C₂₁H₃₄O₂ M.P. 36~37°C.

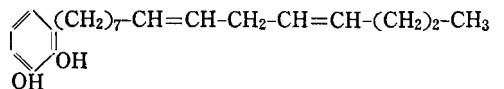


Chemical Components of Urushiol

Monoolefinic component

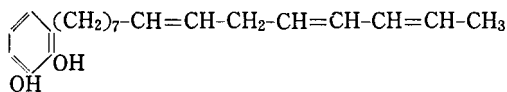


Diolenic component



本 論文의 要旨은 1964年 第16回 大韓藥理學會 學術大會에서 發表하였음.

Triolefinic component



II. 化學的實驗

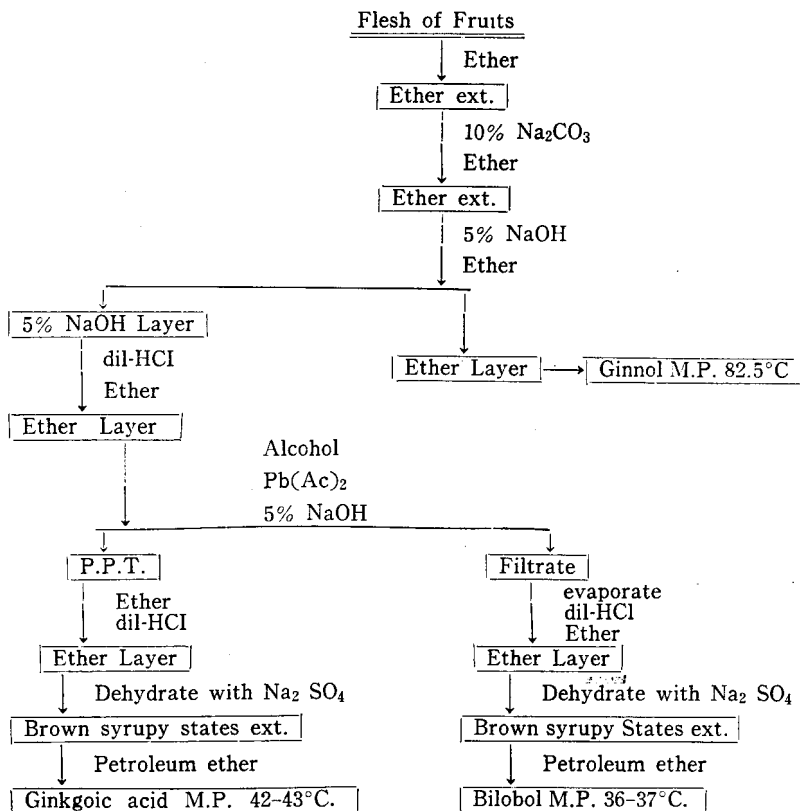
1. 銀杏成分의 分離

韓國產 Ginkgo biloba L. 의 新鮮한 核果의 外種皮 50 kg를 採取하여 川村⁹⁾의 分離方法에 依據하여 ether extract 1.2kg 을 얻었다. 이 ether extract 를 冷却시키면서 10% sodium carbonate 溶液을 泡沫이 發生하지 않을때까지 滴加하여 다시 ether 로 抽出하고 5% sodium hydroxide 溶液으로 alkali 化 시킨다음 다시 ether 로 數回 抽出하였다. ether 抽出液은 ether 을 蒸發하여 結晶을 析出し켰다. 析出된 粗結晶을 吸引濾過하고 溫 ethanol 에 溶解시켜서 活性炭으로 脫色시킨後 減壓濃縮시켜 結晶을 얻었다. 이 結晶을 ethanol 로 數回 再結晶시켜 白色結晶 ginnol 13.0 g 을 얻었다. Sodium hydroxide 溶液部分은 dil-hydrochloride 로 中和시키고 ether 로 抽出하여 얻은 黑褐色 粘稠性物質을 溫 ethanol 에 溶解시켜서 lead acetate 로 沈澱시키고 過剩의 lead acetate 를 5% Sodium hydroxide 로 中和시켰다. 沈澱

物은 ethanol 과 ether 로 洗滌하여 沈澱物과 母液에 移行하는 物質을 分離시켰다. 沈澱物을 ether 에 浮遊시켜 dil-hydrochloride 를 加한다음 ether 로 抽出하여 蒸溜水로 數回 洗滌하여 不純物을 除去하고 anhydrous sodium sulfate 를 加하여 잘 振盪한後 24 時間 靜置하여 完全脫水 시킨다음 ether 을 蒸發시켜서 褐色粘稠性 extract 240g 을 얻었다. 이것을 -15°C 以下에서 7 日間 靜置하여 析出된 結晶을 吸引濾過하여 petroleum ether 로 數回 再結晶하여 白色針狀結晶인 ginkgoic acid 12.0 g 을 얻었다.

前記 ginkgoic acid 를 分離한 ethanol-ether 溶液을 減壓濃縮시키고 dil-hydrochloride 를 加하여 ether 로 抽出하고 數回 蒸溜水로 洗滌한 다음 anhydrous sodium sulfate 를 加한後 振盪하여 24 時間 靜置하여서 完全히 脫水시킨 다음 ether 을 蒸溜시켜서 褐色粘稠性 extract 150g 을 얻었다. 이에 少量의 petroleum ether 을 加하여 -15°C 以下에서 7 日間 靜置하여 析出되는 結晶을 吸引濾過하고 活性炭으로 脫色시킨後 減壓濃縮하여 結晶을 析出し켰다. 結晶을 濾別하고 petroleum ether 로 數回 再結晶하여 白色結晶 bilobol 4.5g 을 얻었다. 化學操作은 Table 2 와 같다.

Table 2. Isolation procedure of the chemical components of flesh of ginkgo biloba L. fruits



2. 定性反應

위에서 分離한 ginnol- ginkgoic acid, bilobol, 的 定性反應은 Table 3 와 같다.

Table 3. Qualitative reaction of ginnol, ginkgoic acid and bilobol

Sample Reagent	Ginnol	Ginkgoic Acid	Bilobol
5% NaOH soln and FeCl ₃	negative	violet	negative
5% NaOH soln and Diazobenzol Sulfonic Acid	light yellow	orange red	orange red
Liebermann's reaction	negative	yellowish brown	yellowish brown
Millon's reaction	negative	negative	yellowish brown
Conc-H ₂ SO ₄	light yellow	yellow	yellow

3. 理化學的 性質

1) Ginnol

分子式 C₂₇H₅₆O 分子量 396 融點 82.5°C

元素分析值

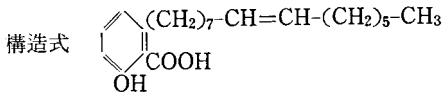
理論值 C% 81.72 H% 14.24

實驗值 C% 81.31 H% 14.03

中性이며 水에 不溶 benzene, ether, petroleum ether 에 易溶이다.

2) Ginkgoic acid.

分子式 C₂₂H₃₄O₃ 分子量 346 融點 42~43°C



元素分析值

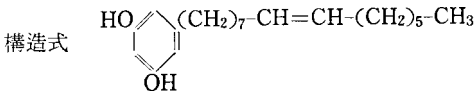
理論值 C% 76.30 H% 9.82

實驗值 C% 76.07 H% 9.72

水에 不溶이나 ethanol, ether, petroleum ether 에는 易溶이다.

3) Bilobol

分子式 C₂₁H₃₄O₂ 分子量 318 融點 36~37°C



水에 不溶 ethanol, ether, petroleum ether 에 易溶이다.

Ⅲ. 藥理學的 實驗

A. 實驗材料 및 實驗方法

1. 實驗材料

1) Bilobol

著者가 韓國產 銀杏의 外種皮(Flesh of Ginkgo biloba L. Fruits)에서 分離한 白色結晶인 bilobol (M. P.

36~37°C)을 使用하였으며 一定量의 tween 80 과 乳化하여 各種 營養液에 稀釋하였다.

2) 實驗動物

本實驗에 使用한 動物은 同一한 條件下에서 一定期間 飼育한 健康한 動物을 使用하였다.

Rabbit : 體重 2.0kg 內外

Rat : 體重 200g 內外. 後肢灌流實驗에는 體重 250g 內外的 雌性 rat 를 使用하였다.

Guinea pig : 體重 350~400g.

Cock : 體重 2.0kg 內外

Mouse : 體重 15~20g

Frog : 體重 20 g 內外的 Rana nigromaculata

3) 實驗에 使用된 試藥

- i) Histamine diphosphate; Abbott Laboratories.
- ii) Serotonin creatine sulfate (以下 5-HT 라고 略記함); National Biochemical Corporation
- iii) 5-Hydroxyindol acetic acid (以下 5-HIAA 라고 略記함); Mann Research Laboratory.
- iv) 2-Brom-D-lysergic acid diethyl amide (以下 B OL-148 이라 略記함); Sandox Co. LTD.
- v) Chlorpheniramine maleate;
- vi) Atropine sulfate;
- vii) N-(P-methoxy phenyl)-methyl amine; Maruish Chemical Laboratory Japan.
- viii) Compound 48/80; 製法, N-(P-methoxy phenyl)-methyl amine 으로서 Baltzly, R., Buck, J. S., de Beer, E.J. and Webb, F.J.¹⁴⁾ 等の 製法에 依하여 formaldehyde 와 縮合시킨 化合物을 bioassay 하여 文獻記載와 同一한 力價의 物質을 얻어 實驗에 使用하였다(Fig. 1.).

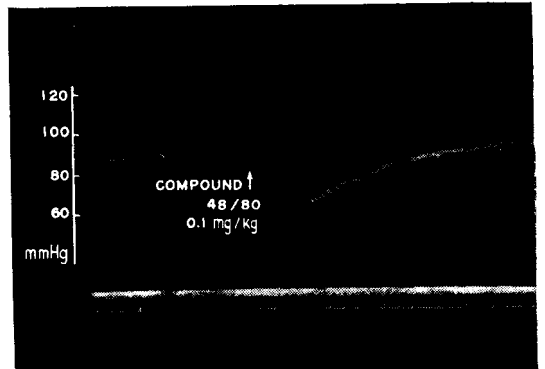


Fig.1. Compound 48/80 0.1mg/kg 에 對한 家兎血 壓의 變化 (靜注) 指時 10秒

2. 實驗方法

1) 腸出家兎腸管 및 子宮에 對한 實驗

別出家兎의 腸管 및 子宮을 Magnus 法에 依하여 38~39°C 로 保溫한 50ml Tyrode 液 및 Locke 液에 小腸

및子宮切片을懸垂하여酸素를供給하면서그運動을kymograph煤煙紙上에描記하였다.

2) 心臟에對한實驗

Engelmann法에依하여蛙心臟運動을kymograph煤煙紙上에描記하였다.

3) 毒力實驗

體重15—20g의mouse를一週日以上同一한條件下에서飼育하여各群을10匹로區分하고藥物을腹腔內에注射後72時間의致死數를Van der Waerden¹⁵⁾法에依하여算出하였.

4) 血壓 및 呼吸에對한實驗

2.0kg內外의家兎를urethane麻醉下에水銀manometer로서頸動脈의血壓을測定하고氣管에插入한cannula를tambour에連結하여血壓曲線과同時에呼吸曲線을kymograph煤煙紙上에描記하였다.

5) 毛細血管透過性에對한實驗

Rat; guinea pig, rabbit 및 cock의皮膚에Miles & Miles¹⁶⁾方法에依하여實驗하였다.

Rat; 體重200g內外의것을barium sulfide paste (barium sulfide: zinc oxide: starch=2:1:1)로腹部毛를脫毛後溫水로洗滌하고29°C室內에서2日間飼育한後實驗에使用하였다.

Trypan blue 40.0mg/kg을靜脈內注射하고各濃度のbilobol 0.05ml을皮內注射40分後에靑斑의直徑을Sparrow & Wilhelm¹⁷⁾方法에依하여計測하였다.

Guinea pig: 體重300~400g의것을上記와同一한方法으로脫毛시켜trypan blue 40.0mg/kg을靜脈內注射하여實驗하였다.

Rabbit: 體重2.0kg內外의것을背部皮膚毛를面刀로完全히除去하고2日間29°C의室內에서飼育한後trypan blue 4.0mg/kg을靜脈內注射하고上記와같은方法으로實驗하였다.

Cock; 體重2.0kg內外의것을使用하였으며腹部의것을뽑은後2日間29°C에서飼育하여trypan blue 6.0mg/kg을靜脈內注射하고上記와같이實驗하였다.

6) Histamine遊離의生物學的檢定

i) Rat의下肢灌流

體重250g內外의雌性rat를pentothal sodium 40.0mg/kg을腹腔內注射로麻醉後開腹하여消化管子宮 및 卵巢를結紮한後除去하고Feldberg & Mongar¹⁸⁾法에依하여37°C의Locke液으로灌流하였다. Bilobol의投與는動脈cannula를通하여注射하였다. 灌流液의採取는cannula插入後血液을充分히流出시킨다음每20分間隔으로80分間分割採取하였다.

ii) Histamine의生物學的檢定

上記灌流液을atropine으로前處置한guinea pig

ileum切片을使用하여32°C의Locke液中에서標準histamine diphosphate의作用과比較하였다.

7) Rat 尿中の5-HIAA 排泄量測定

體重200g內外의rat로서實驗群에는bilobol 5.0mg/kg 및 10.0mg/kg을腹腔內에注射하고對照群에는tween 80을含有한生理食鹽水を投與後12時間尿를Ratliff,¹⁹⁾ Pierce Carole²⁰⁾ 및李²¹⁾等の方法으로25.0ml의glacial acetic acid와3.0ml의toluene이들어있는容器에採取하였다. 尿量을計量하고그중5.0ml을取하여sodium chloride 2.0g와ether 25.0ml을加하여充分히混合시킨後混合液을遠沈하여ether層20.0ml을取하여減壓濃縮시키고殘渣를蒸溜水4.0ml로溶解하여其中2.0ml에nitrosophthal reagent 1.0ml와nitrous acid reagent 1.0ml을加하여56°C水浴中에서5分間加溫한後ethylacetate 10.0ml을加하고室溫에서30分間放置한後下層液을取하여525μ에서optical density를測定하고Beer's law와下記式에依하여12時間尿內의5-HIAA量을算出하였다.

$$\frac{12 \text{ hr's urine (ml)} \times \text{mg}}{1000} = \text{mg/12hr's urine}$$

對照實驗으로蒸溜水2.0ml에nitrosophthal reagent와nitrous acid reagent 1.0ml씩을加한後檢體와同一한過程으로調製하였다.

本實驗은Bausch & Lomb, Spectronic 20 colorimeter를使用하였으며nitrous acid reagent는每回新調하였다.

B. 實驗成績

1. 剔出家兎腸管 및 子宮에對한作用

剔出腸管은0.01% bilobol溶液에서緊張은漸次的으로下降하고運動은減弱된다.

0.05% bilobol溶液에서는顯著한運動의抑制 및 急激한緊張의下降을招來한다.

이때pilocarpine이나barium chloride等을作用시키도緊張이若干亢進되나運動은即時 또는漸次停止된다(Fig.2.). 그러나Tyrode液으로代置하면運動과緊張이漸次로恢復된다. 따라서其作用은腸管筋肉自體에對한 것으로思料된다. 이때tween 80만으로서對照實驗하였으나別變化가 없었다.

剔出子宮은0.005% bilobol溶液에서緊張度는上昇하고運動은減弱되어15分後부터恢復된다. 0.01% bilobol溶液에서는緊張度가顯著히上昇하고運動은減弱된다(Fig 3).

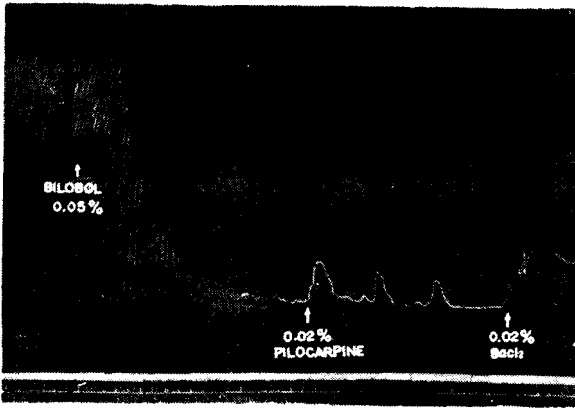


Fig. 2. 0.05% bilobol 의 家兔腸管에 對한 作用 指時 10秒

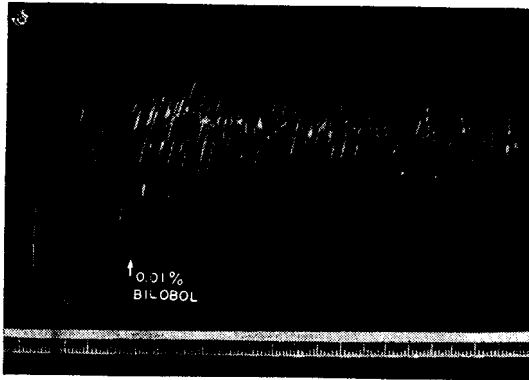


Fig. 3. 0.01% bilobol 의 家兔別出子宮에 對한 作用 指時 10秒

2. 蛙心臟에 對한 作用

Engelmann 法에 依하여 蛙에 bilobol 500mg/kg 가 지 注射하여 2時間以上 觀察하였으나 特記할만한 變化는 없었다.

3. 毒力試驗

Mouse 을 各群 10匹로하여 bilobol 을 腹腔內 注射하여 72時間內의 致死數를 Van der Waerden¹²⁾法에 依하여 算出한 LD₅₀ 은 Table 4 와 같이 761mg/kg 이다.

Table 4. LD₅₀ of Bilobol in mouse administered intraperitoneally

Dosage (mg/kg)	500	546	595	650	708	773	824	899	980
Died	0/10	1/10	1/10	2/10	2/10	3/10	8/10	7/10	10/10
Treated									

LD₅₀ = 716 mg/kg. C.L. = 718~807(mg/kg) P = 0.05

4. 家兔血壓 및 呼吸에 미치는 作用

Bilobol 은 5.0mg/kg 靜脈注射로서 Fig. 4 와 같이 家兔血壓의 下降을 招來하며 30.0mg/kg 에서는 Fig. 5 와 같이 顯著的한 血壓降下作用을 볼 수 있다.

血壓은 投藥後 30秒內에 急速히 下降하여 5分間 下

降을 繼續하나 徐徐히 正常血壓으로 恢復되는데 約2分이 所要된다. Bilobol 5.0mg/kg 을 3分間隔으로 反復投與時 血壓降下度는 漸次的으로 減少하여 5回投與以後는 作用이 없어진다. 여기에 acetylcholine 1.5r/kg 을 投與時 血壓은 顯著히 下降함으로 tachyphylaxis 가 나타난 것을 알 수 있다 (Fig. 4). Tween 80 만으로서의 對照實驗에서는 血壓에는 아무 變化가 없었다.

Chlorpheniramine maleate 1.0mg/kg로 前處置한 rabbit 에 bilobol 10.0mg/kg 을 投與하였을때 血壓에는 特別한 變化가 없었다. 呼吸은 bilobol 投與로서 3時間以上 亢進되었다(Fig. 5).

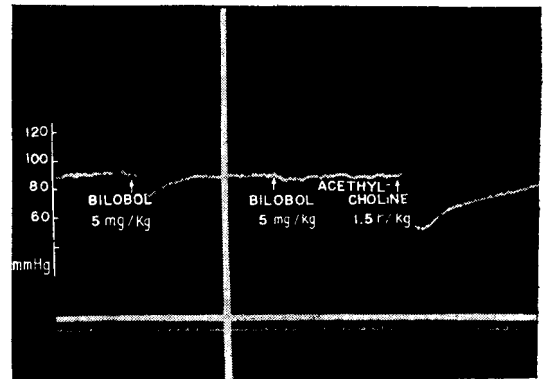


Fig. 4. Bilobol 5.0mg/kg을 反復靜脈注射時 나타나는 家兔血壓의 變化. 指時 10秒

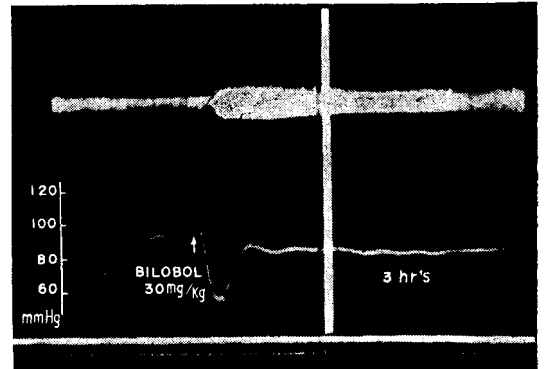


Fig. 5. Bilobol 30.0mg/kg에 對한 家兔血壓 및 呼吸의 變化 (靜注). 指時 10秒

5. 毛細血管 透過性에 對한 作用

Rat, guinea pig 및 rabbit 의 皮膚에 各濃度의 bilobol 을 注射한後 40分間에 edematous area 를 測定한 結果는 Table 5 와 같다.

이 Table 5 의 濃度를 log-scale로 表示하면 Fig. 6과 같다.

Rat 는 各群에 있어서 24匹, rabbit 및 guinea pig 는 6匹을 使用하였다. 對照로서는 tween 80 을 含有한

Table 5. The relative permeability-increasing potency of bilobol, histamine, 5-HT and compound 48/80 in guinea pig, rat and rabbit, at 29°C.

Animal	Dosage * ** Sample	Control	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5
Guinea pig	Bilobol *	0 ***	8.3±0.41	8.9±0.65	9.6±0.92	10.3±0.68	10.7±0.39	11.4±0.43
	Histamine **	0	—	—	—	—	9.5±0.35	10.1±0.52
	5-HT **	0	—	—	—	—	—	—
	Compound 48/80 **	0	—	—	—	—	—	6.7±0.32
Rat	Bilobol	0	0	0	8.6±0.85	9.4±1.75	10.0±1.02	10.3±1.11
	5-HT	0	—	—	—	8.5±0.63	—	9.6±0.86
	Compound 48/80	0	—	—	7.3±0.20	—	—	8.8±0.68
Rabbit	Bilobol	0	0	0	0	7.7±1.39	8.4±1.10	8.7±1.84
	Histamine	0	—	—	8.4±0.24	—	—	10.4±0.38
	Compound 48/80	0	—	—	—	—	—	6.2±0.23

Animal	Dosage * ** Sample	1.0	2.0	5.0	10.0	50.0	100.0
Guinea pig	Bilobol *	12.3±0.47 ***	13.0±0.35	—	—	—	—
	Histamine **	10.9±0.74	—	12.3±0.25	—	—	—
	5-HT **	—	—	6.7±0.24	7.7±0.28	8.8±0.24	9.7±0.40
	Compound 48/80 **	7.8±0.23	—	8.8±0.51	9.8±0.25	—	—
Rat	Bilobol	10.9±1.10	—	—	—	—	—
	5-HT	10.7±0.6	—	11.6±0.42	—	—	—
	Compound 48/80	—	—	10.8±10.4	—	—	—
Rabbit	Bilobol	9.6±1.24	10.6±0.94	—	—	—	—
	Histamine	11.5±0.34	—	12.5±0.34	—	—	—
	Compound 48/80	—	7.1±0.33	8.0±0.4	9.1±0.66	—	—

* mg in injection valume of 0.05 ml

** 7 in injection Volume of 0.05 ml

*** mm diameter of edematous area

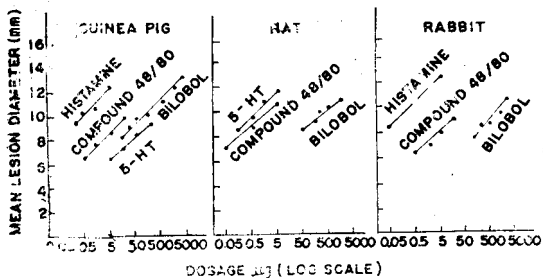


Fig. 6. The relative permeability-increasing potency of bilobol, histamine, 5-HT and compound 48/80 in guinea pig, rat and rabbit.

生理食鹽水를 使用하였다. 對照群은 注射後 若干의 反應이 나타났지만 40分 以內에 消失하였고 大部分 反應이 없었다. 比較物質로 rat에는 compound 48/80 및 5-HT를 使用하였으며 guinea pig에는 histamine, compound 48/80 및 5-HT를 使用하고 rabbit는 histamine 과 compound 48/80을 比較物質로 使用하였다. 以上の 成績은 guinea pig가 bilobol에 對하여 가장 銳敏한 edematous area 現象을 나타 냈으며 다음에 rat, rabbit, cock의 順이다. Bilobol이 rat, guinea pig, rabbit 및 cock에 對한 effective blueing dose (E.B.D.)는 Table 6과 같이 guinea pig 0.01 mg, rat 0.05 mg, rabbit 0.1 mg, cock 0.1 mg 이다.

即 皮膚反應出現率은 guinea pig가 가장높고 다음에 rat, rabbit, cock의 順으로 減少된다.

Chlorpheniramine maleate 0.1 mg/kg 및 chlorphe-

Table 6. Comparison of E.B.D. of bilobol by experimental animal at 29°C

Animal	Dosage (mg)				
	0.005	0.01	0.05	0.1	0.2
Guinea pig	—	+	+	+	+
Rat	—	—	+	+	+
Rabbit	—	—	—	+	+
Cock	—	—	—	+	+

+ Psitive, — Negative, For each 18 almalse wer.used

Table 7. The influence of BOL-148 and chlorpheniramine maleate on the intensity of bilobol induced edema in skin of rat at 29°C

Bilobol(mg)	Dose				
	0.02	0.05	1.0	0.2	0.5
Pretreated					
Not pretreated	0*	8.6±0.8	9.4±3.0	10.0±1.0	10.3±1.1
BOL-148 (4.0mg/kg)	0	8.5±0.8	9.3±0.5	9.8±0.7	—
Chlorpheniramine maleate (0.1mg/kg)	0	0	0	8.7±0.9	9.6±1.0
BOL-148(4.0 mg/kg) chlorpheniramine maleate (0.1mg/kg)	0	0	0	8.8±1.0	9.8±0.9

For each case 24 animals were used. * mm

niramine maleate 0.1 mg/kg 와 BOL-148 4.0 mg/kg의 混合液 및 BOL-148 4.0 mg/kg 을 各各 rat 에 皮下注射한 다음 1 時間後에 bilobol 各濃度의 皮內注射로서 bilobol 에 依한 浮腫은 Table 7 과 같이 抗 histamine 劑로 因하여 抑制되나 抗 serotonin 劑로서는 抑制되지 않음을 알수있다.

6. Histamine 遊離의 生物學的 檢定

Bilobol 0.05mg, 0.1mg, 0.5mg, 1.0mg 을 各各 動脈 cannula 를 通하여 注入한 後 每 20 分 마다 80 分間 灌流液을 分割採取하여 histamine 의 生物學的 檢定을 한 結果 Table 8 및 Fig.7 과 같이 0.1mg에서부터 histamine

Table 8. Comparison of histamine releasing activity of bilobol during perfusion of rat hind quaters

Bilobol (mg)	Time (min)				
	Control	20	40	60	80
0.05	0*	0	0	0	0
0.1	0	0.24 ± 0.05	0.16 ± 0.08	—	—
0.5	0	0.40 ± 0.01	0.37 ± 0.05	0.17 ± 0.08	—
1.0	0	0.40 ± 0.09	0.36 ± 0.06	0.17 ± 0.03	—

*7, The values were obtained from 6 cases (p=0.05.)

의 遊離를 檢定할 수 있었다. 이때 tween 80 만을 含有한 對照實驗灌流液에서는 histamine 을 證明하지 못하였다.

7. Rat 尿中の 5-HIAA 排泄量測定

Bilobol 5.0mg/kg 및 10.0mg/kg 을 各各 rat 腹腔內에 注射後 12 時間 採尿하여 尿中の 5-HIAA 의 排泄量을 定量한 結果는 Table 9 와 같다.

對照群에는 saline solution 을 注射하여 比較하였다.

對照群의 排泄量 13.7±3.36 r 에 比較하여 bilobol 5.0 mg/kg 및 10.0mg/kg 을 注射한 群의 排泄量은 14.0±4.02 r 및 14.1±4.72 r 로서 排泄量에는 別變化가 없음을 알 수 있다.

Table 9. Comparison of 5-HIAA excretion in bilobol treated rat urine (12 hrs)

Animal No.	Group		
	Control	Bilobol 5.0 mg/kg	Bilobol 10.0 mg/kg
1	15.5 *	17.8	14.3
2	15.5	16.0	22.7
3	19.4	10.0	16.6
4	9.0	12.2	12.9
5	15.3	7.2	13.9
6	12.4	19.0	8.4
7	10.0	13.8	16.2
8	12.6	16.0	8.0
Mean±S.D.	13.7±3.36	14.0±4.02	14.1±4.72

*µg non-significant

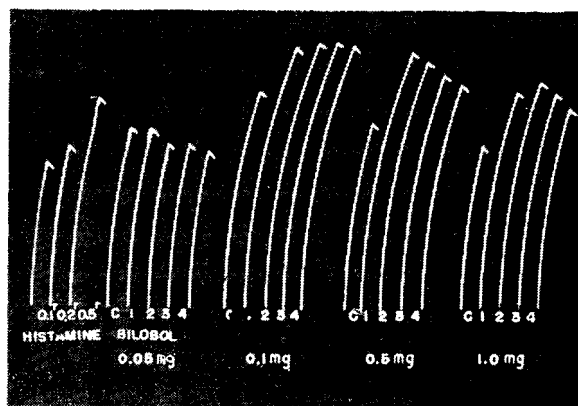


Fig. 7. Guinea pig ileum 切片을 適用한 histamine測定

VI. 總括 및 考察

韓國產 Ginkgo biloba L.의 新鮮한 核果의 外種皮를 ether로 處理하여 ginnol, ginkgoic acid 및 bilobol 을 分離하고 이들 成分의 理化學的 性質을 究明하여 文獻記載와 一致함을 確認하고 가장 發泡性이 強한 것으로 認定되는 bilobol 에 對한 藥理作用을 檢討한 바를 總

括하면 家兔의 腸管에 對하여는 腸管筋肉에 痲痺的으로 作用하며 家兔子宮에 對하여서는 收縮作用을 나타냈다. 蛙心臟에 對하여는 Engelman 法에 依한 生體內의 蛙心臟에 對한 影響은 500mg/kg 에서도 特記할 變化를 나타내지 않았다. Bilobol 의 mouse 에 對한 LD₅₀ 은 761 mg/kg 로서 毒性은 弱하다고 認定된다. Bilobol 의 家兔 血壓에 미치는 影響은 一過性인 血壓降下作用을 나타내며 反復注射로서 tachyphylaxis 現象이 나타난다. 또 chlorpheniramine maleate 로 前處置한 家兔에서는 血壓降下作用을 抑制할 수 있었다. 이 血壓降下作用이 心臟에 對한 作用을 檢討한 結果 蛙心臟에 對하여 500mg/kg 의 大量에서도 特記할만한 變化가 나타나지 않으므로 bilobol 의 血壓降下作用은 心臟抑制作用으로 起因한다고 생각하기는 困難하다. 또 皮膚浮腫性의 亢進 및 rat 下肢灌流液中的 histamine 을 遊離시키는 事實로 미루어 볼때 bilobol 에 依한 血壓降下作用은 histamine 遊離로 起因된다고 思料되며 이 血壓降下作用에 對하여서는 urushiol 의 histamine 遊離가 血壓에 미치는 影響에 關한 洪¹²⁾의 報告와 人蔘의 histamine 遊離와 血壓과의 關係에 對한 李²²⁾의 報告와 類似한 機轉으로 思料된다. Bilobol 은 家兔呼吸을 持續的으로 亢進시키고 血壓이 正常으로 恢復되어도 繼續하여 亢進된다. Bilobol 의 毛細血管透過性에 對한 作用은 Table 5, Fig. 6 와 같이 guinea pig 가 가장 顯著하며 다음 rat, rabbit 의 順이다. 이 毛細血管透過性에 對하여서는 histamine 또는 histamine liberator 가 關與된다는 Miles and Miles¹⁶⁾, Paton²³⁾ 및 Gaddum²⁴⁾ 等의 報告가 있고 5-HT 가 毛細血管透過性에 對하여 histamine 과 같은 役割을 한다는 Rowely and Benditt²⁵⁾, Spector²⁶⁾ 等의 報告가 있다. 또 histamine 과 5-HT 는 動物의 種類에 따라 그 感受性이 다르고 皮膚浮腫反應의 直徑과 log-濃度와의 關係가 直線的인 座標를 表示한다는 Sparrow and Wilhelm¹⁷⁾, Parratt and West²⁷⁾ 의 報告가 있으며 5-HT 自體도 histamine releaser 가 된다는 Feldberg & Smith²⁸⁾ 의 報告가 있다. 著者が 實驗한 結果에 依하면 bilobol 濃度の log-scale 과 皮膚浮腫靑斑의 直徑과의 關係는 Fig. 6 과 같이 比較 物質인 histamine, 5-HT 및 compound 48/80 과 類似한 直線을 나타낸다.

Rat 에 있어서 antihistamine 劑인 chlorpheniramine maleate 로 前處置한 群에서는 bilobol 에 依한 皮膚反應出現이 顯著히 減少되나 antiserotonin 劑인 BOL-148 로 前處置한 群에서는 bilobol 에 依한 皮膚浮腫反應에 別다른 變化가 없으므로 미루어 보아 bilobol 의 皮膚浮腫反應은 bilobol 이 histamine liberator 로서 作用된다고 思料된다.

Bilobol 에 對한 rat 의 下肢灌流液中的 histamine 의

量은 Table 8 에 表示한바와 같이 rat 下肢灌流液中的 histamine 遊離는 0.1mg 에서부터 始作되며 0.5mg 로서 histamine 의 量이 最大로 增加함을 觀察하였다.

Bilobol 을 注射한 rat 群의 5-HIAA 의 尿中 排泄量은 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 認定하지 못하였다.

以上的 實驗結果를 綜合하여 볼때 Antihistamine 劑로 前處置한 家兔에서는 bilobol 에 依한 血壓降下作用이 나타나지 않으며 毛細血管透過性이 antihistamine 劑에 依하여 抑制되고 Antiserotonin 劑인 BOL-148 로서는 影響을 받지 않는다는 點 및 rat 下肢灌流液中的 histamine 을 遊離시킨다는 事實 또 bilobol 을 注射한 rat 群의 尿中 5-HIAA 量이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 認定치 못한다는 點 等으로 미루어 보아 bilobol 은 histamine 을 遊離하며 serotonin 의 遊離에는 關與치 않는 것으로 思料된다.

V. 結 論

銀杏 Ginkgo biloba L. 의 核果의 外種皮에서 強力한 發泡性 物質로 思料되는 bilobol 을 抽出하여 이에 對한 藥理作用을 檢討하여 다음과같은 結論을 얻었다.

1. Bilobol 은 家兔剔出腸管에 痲痺的으로 作用하며 剔出子宮에 對하여서는 收縮作用을 한다.
2. Bilobol 은 蛙心臟에 對하여 500mg/kg 에서도 顯著한 變化가 없었다.
3. Bilobol 의 mouse 에 對한 LD₅₀ 은 761mg/kg 이다.
4. Bilobol 은 家兔血壓에서 一過性인 血壓降下를 招來하고 反復注射로 因하여 tachyphylaxis 를 일으킨다. Chlorpheniramine maleate 로 前處置한 家兔에서는 血壓降下作用을 招來하지 않고 呼吸은 顯著히 亢進시켰다.
5. Bilobol 에 對한 毛細血管 透過性의 強度는 guinea pig 에서 가장 銳敏하며 다음이 rat, rabbit 의 順이다.
6. Bilobol 로 因한 浮腫의 出現은 Chlorpheniramine maleate 로서 顯著히 抑制되나 BOL-148 로서는 抑制되지 않았다.
7. Rat 의 下肢灌流液中的 histamine 遊離는 bilobol 0.1mg 注射에서 遊離되기 始作하여 0.5mg 에서 最高에 達한다.
8. Bilobol 投與로 因한 rat 尿中 5-HIAA 排泄量의 增加는 認定되지 않았다.

(本論文을 指導하여 주신 恩師 吳鎮燮教授, 洪思岳教授에게 深甚한 謝意를 表하며 本實驗에 勞苦를 아끼지 않고 協助하여 주신 敎室員 諸位에게 深謝합니다. 또 여러가지로 協助하여 주신 李鍾奎, 柳庚秀, 梁忠鎬, 金濟勳 諸位에게 感謝드리는 바입니다)

ABSTRACT

A Chemical and Pharmacological Study on Bilobol A Component of Ginkgo

Biloba L. Fruits

Dae Sup Han, M.D.

Department of Pharmacology, College of Medicine,
Seoul National University, Seoul, Korea

(Director: Prof. Jin Sup Oh, M.D.)

Flesh fruits of Ginkgo biloba L. is induced often intensive vesicular skin inflammation.

This vesicular skin inflammation is very similar to those induced by urushiol.

In chemical structure of bilobol which is as known vesicular skin inflammatory components in flesh fruits of Ginkgo biloba L. is pentadecenyldihydroxyphenol. This chemical structure is also resemble to constituents of urushiol.

With a view to clarifying the chemical and pharmacological properties of bilobol, a component extract from the flesh of Ginkgo biloba Linne fruits, the author has conducted a series of experiment which led to the following conclusions:

1. Bilobol had a paralytic effect upon isolated rabbit intestines, while it exercised a contractive action upon the isolated uterus.

2. Bilobol did not produce any noticeable pharmacological effect upon frog heart even at a high dosage to 500mg/Kg.

3. LD₅₀ of bilobol upon mouse was measured at 761mg/Kg.

4. Bilobol administration produced a transitional hypotensive effect upon rabbits. A repeated administration of bilobol produced tachyphylaxis. Bilobol administration produced a evidently increase effect upon rabbit respiration.

5. Capillary vessel permeability of bilobol appeared to be strongest in guinea pigs, followed by rats and rabbits in order of strength.

6. Edema resulting from administration of bilobol was markedly inhibited by chlorpheniramine maleate but not by BOL-148.

7. Histamine release by bilobol in lower extremities irrigation in rats started at bilobol 0.1mg. and reached a maximum at bilobol 0.5mg.

8. Administration of bilobol did not produce any

recognizable increase of 5-hydroxyindol acetic acid content of rat urine.

REFERENCES

- 1) 鄭台鉉: 韓國植物圖鑑 上卷 1(1957)
- 2) 牧野富太郎: 新日本植物圖鑑 57(1962)
- 3) 刈米達夫: 最新和漢藥用植物 429(1960)
- 4) Schwarzenbach: *Jahresberichte über die Fortschritt der Chem.* 529(1857)
- 5) Bechamp: *Ann. Chim. et Phys.*, [4] 1. 228(1860)
- 6) U. Suzuki: *Bull. Coll. Agricult. Tokio*, 4. 1-23; 25-67(1900)
- 7) Langley: *Journ. Americ. Chem. Soc.* 29, 1513-15 (1907)
- 8) 吉村清尚: 日本化學雜誌 37, 863(1916)
- 9) 川村實平: *Jap. J. Chem.* 3, 89-108(1928)
- 10) 中澤浩一: 日本藥學雜誌 61, 174(1931)
- 11) 古川周: *Soc. Papers of Inst. Phys. Chem. Research* 19, 29(1932)
- 12) 洪思岳: 漆汁(Urushiol)의 化學的 및 藥理學的 研究: *The Seoul Journal of Medicine* Vol. 2. No. 3, 99 (1961)
- 13) 稻垣勳: 植物化學 300(1961)
- 14) Richard Baltzly et al.: *A family of long-acting depressor*; *J. Amer. Chem. Soc.* 71, 1301(1949)
- 15) Van der Waerden: *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, 195, 389(1940)
- 16) Miles, A. A. & Miles, E. M.: *Vascular reactions to Histamines, Histamine-liberator and Leukotoxine in skin of guinea pigs*; *Journal of Physiology*, 118, 228(1952)
- 17) Sparrow, E. M. and Wilhelm: *Species differences in susceptibility to capillary permeability factors, Histamine 5-Hydroxytryptamine and Compound 48/80*; *Journal of Physiology*, 137, 51(1957)
- 18) Feldberg, W. & Mongar, J. L.: *Comparison of Hisamine release by Compound 48/80 and Octylamine in perfused tissues*; *Brit. J. Pharmacol.* 9, 197 (1954)
- 19) Ratliff, C. R.: *Studies on a simplified method for urine 5-Hydroxyindol Acetic Acid (5-HIAA)*; *Am. J. Ned. Technol, March April*; 84(1962)
- 20) Pierce Carole: *Assay and importance of Serotonin and it's metabolism*; *Am. J. Clin. Pathol.* 30, 230 (1958)
- 21) 李鍾祥: 正常中國人 및 精神分裂症患者의 尿中 5-Hydroxy indol Acetic Acid 排泄에 關한 研究 第一

報 · 第二報 · 第三報: 大韓內科學會雜誌 5. No.1, 27, 34, 41(1962)

- 22) 李宇柱, 張雲燮, 李世珪: 人蔘의 *Histamine* 遊離作用에 관한 研究: 最新醫學 3, No. 1, 37(1960)
- 23) Paton. W.D.H.: *Histamine release by compound of simple chemical structure: Pharmacol Rev.* 9, 269(1957)
- 24) Gaddum, J. H.: *Histamine; Brit. Medical, J.* 1, 867 (1948)
- 25) Rowley, D.A. And Benditt, E.P.: *5-Hydroxytryptamine and Histamine as mediator of the*

vascular injury produced by agents which damage most cells in rats; Exp. Med. 103, 399 (1956)

- 26) W.G. Spector: *Substance which affect capillary permeability; Pharmacol. Rev.* 10, 475(1958)
- 27) J. R. Parratt and G.B. West: *Realease of 5-Hydroxytryptamine and Histamine from tissues of the rat; J. Physiol.* 137, 179(1957)
- 28) Feldberg, W. & Smith, A. N.: *Release of Histamine by Tryptamine and 5-Hydroxytryptamine; Brit. J. Pharmacol.* 8, 406(1953)