

## 초오의 수처리방법에 따른 알칼로이드 함량

김호경\* · 이해원 · 전원경  
한국한의학연구원 검사사업부

### Effects of Various Processing Methods on the Contents of Alkaloids in the Cho O(Aconiti Ciliare Tuber)

Ho Kyoung Kim\*, Hye Won Lee, and Won Kyung Jeon

Quality Control of Herbal Medicine Department, Korea, Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea.

**Abstract** – The contents of alkaloids in raw Cho O(Aconiti Ciliare Tuber) and its processed products were determined by high performance liquid chromatography. Processing methods 1 and 2 lowered the contents of alkaloids more than the method 3. Cho O processed with method 1 or 2 showed even lower alkaloid contents than commercially available Processed Aconiti Tuber Powder(PATP). The contents of aconitine and hypaconitine in MeOH extracts of Cho O treated with method 3(10 min irradiation) and mesaconitine of Cho O treated with method 3(5 min) were comparable to those of PATP.

**Key words** – Cho O(Aconiti Ciliare Tuber), Aconitine, Mesaconitine, Hypaconitine, Processed Aconiti Tuber Powder

Aconitum속 식물은 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본으로 그 덩이뿌리는 식물의 종류, 채취부위, 채취 후 처리방법 등에 따라 초오, 오두, 부자, 측자, 포부자, 백부자 등의 생약명으로 불리운다.<sup>1)</sup>

Aconitum속 식물의 성분은 diterpenoid alkaloids로 독성이 강한 aconitine 및 lipo-aconitine류 alkaloids, 독성이 비교적 약한 atisine류 alkaloids가 있지만 성분의 종류와 함량은 기원식물, 산지, 채집시기 및 가공방법의 차이에 따라서 현저히 다르며<sup>2,3)</sup> 총 alkaloid의 함량을 aconitine (C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>)으로 0.5% 이상 함유하도록 규정하고 있다.<sup>4)</sup>

초오(Aconiti Ciliare Tuber)는 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본인 늦겨갓나물(Aconitum ciliare Decaisne)과 동속 근연식물의 괴근을 건조한 것으로, 가을에 잎이 말랐을 때 채취하여 건조하며 중국에서는 北烏頭(Aconitum kusnezoffii)의 괴근을 건조한 것을 사용하고 있고 거풍제습(祛風除濕), 심복냉통(心腹冷痛), 온경지통(溫經止痛), 치풍한습양(治風寒濕痒) 등의 효능이 있다.<sup>5)</sup>

1984년 Kitagawa 등은 부자로부터 mesaconitine, aconitine, hypaconitine, talatizamine, lipoaconitine, lipohypaconitine, lipomesaconitine 및 lipodeoxyaconitine 등의 성분

을 분리 보고하였다.<sup>3)</sup>

Aconitine과 관련한 alkaloid의 정량에 관한 보고는 Kitagawa 등이 liquid chromatography를 이용하는 aconitum alkaloids의 정량법과 흡광도 측정법을 연구 보고하였다.<sup>8-12)</sup>

대한약전 및 대한약전의 한약 규격 주해에는 부자 정량법이 적정법으로 수재되어 있고<sup>4)</sup> 부자류 한약재의 성분 중 aconitine계 알칼로이드의 분석방법 및 함량의 비교분석방법 등에 관하여 보고되었으나 수처리 방법에 따른 함량의 비교 분석방법은 보고되어 있지 않아 본 연구에서는 표준품을 설정하고 수처리 방법에 따른 성분의 함량을 비교 분석하여 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 본 실험에 사용된 초오는 중국산과 한국산을 경동시장에서 구입하여 잡질을 제거한 후 사용하였다. 표준품은 중앙대 황완균 교수님의 감정 후 사용하였고 표본실에 보관중이며, 가공부자말(중국산)은 한풍제약제품을 사용하였다.

**기기 및 시약** – Microwave Oven 은 KOR-811K (Daewoo), HPLC는 Shimadzu LC-10A<sub>VP</sub> (Japan), Negative-ion FAB-Mass Spectrometer는 VG70-VSEQ (England), <sup>1</sup>H-NMR와

\*교신저자(E-mail) : hkkim@kiom.re.kr

$^{13}\text{C}$ -NMR Spectrometer는 Bruker (Germany)를 사용하였다. 시약과 용매는 특급 또는 1급 시약을 사용하였으며, HPLC 용 용매는 HPLC grade (Fisher)를 사용하였다. Aconitine은 Sigma Chem. Co. (USA)에서 구입하여 사용하였으며, mesaconitine과 hypaconitine은 초오에서 분리하여 구조확인 (MS,  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR)을<sup>16,17)</sup> 거쳐 사용하였다.

## 실험방법

**수치** - 중약대사전<sup>13)</sup> 및 포제법<sup>14)</sup>에 일반적으로 알려져 있는 방법과 마이크로파 처리하여 단 시간에 수치 할 수 있는 방법으로 연구 보고된 문헌<sup>15)</sup>에 근거하여 수치하였다.

① 제 1법 : 초오 20 g을 증류수 100 ml에 담구어서 충분히 수분이 스며들게 한 후 6시간 가열하여 그 중 큰 것을 골라 쪼개어 볼 때 백심이 없고 약간 마비하는 감이 있을 때 꺼내서 60% 정도 음지에서 건조시킨 다음 밀폐시켜 두었다가 2 mm 정도의 후편으로 썰어서 건조한다.

② 제 2법 : 초오 20 g을 증류수 100 ml에 담구어 매일 2회 물을 갈아주고 15일 정도 되어서 큰 것을 갈라보아 건심이 없으면 꺼내어 노두를 제거한다. 감초 1g과 흑두 2g을 증류수 100 ml에 전탕하고 감초와 흑두를 제거한 액에 초오를 혼합하여 4시간 가열하여 초오의 백심이 없어지고 허를 대어보아 마비감이 없으면 꺼내어 음지에서 50%정도 건조시켜서 밀폐하여 24시간 정도 두었다가 내외의 습도가 같아지면 꺼내서 2 mm 정도의 두께로 절편하여 시원한 그늘에서 1차 건조하여 60%정도 건조시에 햇볕에 건조한다.

③ 제 3법 : 시료 20 g을 증류수 50 ml, 120 ml(3-1, 3-2) 또는 1%  $\text{NaHCO}_3$  50 ml, 120 ml(3-3, 3-4)에 담구어 15시간 상온에서 방치하여 용액이 고르게 스며들게 하였다가 전자오븐에 넣고 각각 50 ml를 넣은 시료는 5분, 120 ml를 넣은 시료는 10분간 마이크로파 처리한 다음 실온에서 완전히 건조시키고 분쇄기로 조말상태로 갈았다.

**HPLC 조건** - HPLC는 Shimadzu LC-10AVP System으로서 LC-10ATVP Pump, SPD-10AVP UV-VIS Detector, SIL-10ADVP Auto Injector (Japan)를 사용하였다. Column은 Nova-Pak CN (3.9×300 mm, Waters)를 사용하였고 이동상으로는 acetonitrile - pH 3.0 phosphoric acid = 50 : 50 (v/v)이 되도록 하였다. 유속은 1.0 ml/min으로, UV Detector 파장은 254 nm에서 고정하여 실시하였다.

**표준액의 조제** - Mesaconitine, aconitine 및 hypaconitine 각각 2.0 mg을 HPLC용  $\text{CH}_3\text{CN}$  10 ml에 녹이고 이것을 stock solution으로 하여 20, 50, 100, 150, 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 단계적으로 희석하여 검량용 표준용액으로 하였다. 각각의 표준용액 10  $\mu\text{l}$ 를 HPLC로 분석하여 chromatogram의 면적을

구하고 이들의 면적과 표준용액의 농도를 변수로 한 검량선을 작성하여 얻은 회귀직선 방정식은 다음과 같다. Mesaconitine  $y=1085.7x+517.22$  ( $R^2=0.9997$ ); Aconitine :  $y=1029.2x+4690.1$  ( $R^2=0.9976$ ); Hypaconitine :  $y=1155x-3101.2$  ( $R^2=0.9992$ )

**검액의 조제** - 검체 각각 10.0 g을 정확히 평량하여 methanol 또는  $\text{H}_2\text{O}$  50 ml를 가해 각각 실온 및 Ultra sonic으로 60분간 3회 반복 추출, 여과 및 감압농축후 동결건조하여 methanol 또는  $\text{H}_2\text{O}$  추출물을 얻었다. 이를 HPLC용  $\text{CHCN}_3$  10 ml에 용해시킨 후 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 여액을 검액으로 사용하였다. 각각의 검액 10  $\mu\text{l}$ 를 HPLC에 주입하여 chromatogram의 면적을 얻었고 회귀직선 방정식으로부터 각각의 지표물질의 함량을 구하였다.

## 결과 및 고찰

중약대사전 및 포제법에 수록된 수치 방법과 최근 새로이 연구 보고된 수치법인 전자오븐에서 마이크로파로 처리하는 방법을 선정하여 시험하였다. 1법은 시료를 물에 담구었다가 6시간 가열하고 2법은 매일 2회 15일간 물을 갈아주고 일정량의 감초와 흑두를 전탕한 액에 초오를 혼합하여 4시간 가열하며 3법은 증류수 및 1%  $\text{NaHCO}_3$  50, 120 ml에 침적시킨 후 5분, 10분간 마이크로파 처리하였다. 각각의 검체는 MeOH 또는 증류수로 추출한 후 HPLC로 분석한 결과를 Table I 및 II에 정리하였다.

HPLC의 분석조건으로는 Nova-Pak CN column을 이용하여 acetonitrile : phosphoric acid (pH 3.0) = 50 : 50 (v/v)을 유속 1.0 ml/min으로 용출시킴으로써 각각 retention time 약 5.0, 5.8, 6.2분에서 mesaconitine, aconitine 및 hypaconitine의 peak(Fig. 1)을 양호하게 분리 할 수 있었으며, Fig. 2와 같은 calibration curve를 얻었고 검량선에 대한 상관계수는 1에 접근하여 이를 이용하여 각 시료에 함유된

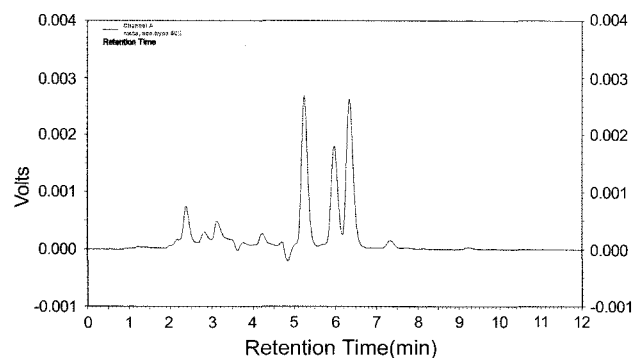
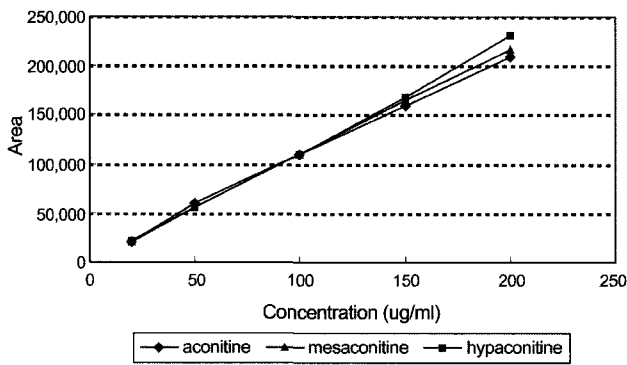


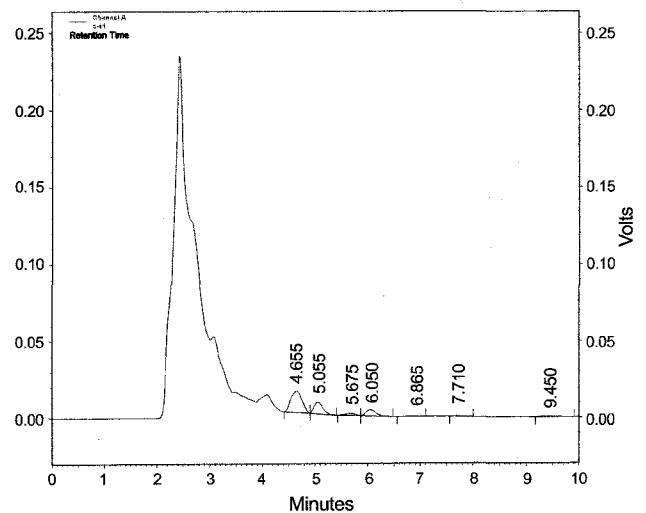
Fig. 1. HPLC chromatogram of aconitine, mesaconitine and hypaconitine.



**Fig. 2.** Calibration curve of of aconitine, mesaconitine and hypaconitine.

mesaconitine, aconitine, hypaconitine의 함량을 구하였다.

Table I과 Table II는 초오의 MeOH 추출물과 H<sub>2</sub>O 추출물의 alkaloid함량을 나타낸 것인데 수치 전에 가공부자보다 상당히 많은 양의 mesaconitine, aconitine, hypaconitine을 함유하고 있으며 수치 후에는 수치전보다 alkaloid함량이 감소하였으며 수치 방법에 따라 alkaloid의 함량은 현저



**Fig. 3.** A representative HPLC chromatogram of the extract from Cho O from China treated with the method 3-1.

히 달랐고 H<sub>2</sub>O 추출물의 경우 수치전 · 후에 모두 중국산이 한국산보다 aconitine과 mesaconitine의 함량이 많았다.

**Table I.** Contents of diterpene alkaloids in methanol extracts of Cho O (µg/g)

	Mesaconitine		Aconitine		Hypaconitine	
	Korea	China	Korea	China	Korea	China
PATP*		591.55		47.78		166.80
Raw	3813.111	3218.879	366.525	380.996	1779.302	1585.221
Processed						
1	0.029	—	18.639	6.772	3.423	—
2	0.522	—	—	1.799	7.930	1.816
3-1	109.114	628.278	114.482	116.042	534.005	386.283
3-2	53.087	131.082	16.170	40.083	779.084	145.722
3-3	5.301	58.738	17.392	26.678	47.771	86.200
3-4	5.041	87.997	4.389	6.978	67.759	145.081

\*Processed Aconiti Tuber Powder (commercially available).

**Table II.** Contents of diterpene alkaloids in water extracts of Cho O (µg/g)

	Mesaconitine		Aconitine		Hypaconitine	
	Korea	China	Korea	China	Korea	China
PATP*		562.56		6.55		—
Raw	1425.759	2366.234	158.443	164.699	1986.540	1098.370
Processed						
1	—	1.452	82.225	24.178	107.467	—
2	—	—	—	33.690	—	—
3-1	535.416	1656.327	—	63.522	1054.537	1061.110
3-2	77.037	714.725	—	98.929	676.362	1022.727
3-3	50.446	666.912	—	—	396.269	465.929
3-4	—	—	—	—	—	179.152

\*Processed Aconiti Tuber Powder (commercially available).

**Table III.** Contents of diterpene alkaloids in washed water of Cho O by processing 2 ( $\mu\text{g/g}$ )

		Mesaconitine		Aconitine		Hypaconitine	
		Korea	China	Korea	China	Korea	China
Processing 2	1 day	3527.972	5990.765	279.299	274.824	3230.404	1700.021
	2 day	1407.785	4057.096	98.330	202.357	1285.528	1129.540
	3 day	1339.507	4138.209	124.303	301.313	1330.032	1128.557
	5 day	600.475	2575.706	66.389	208.727	665.984	734.409
	7 day	357.073	1512.846	44.072	133.992	398.897	437.367
	9 day	134.424	661.727	14.267	57.124	135.678	185.743
	11 day	121.973	729.171	12.805	58.188	136.068	225.909
	13 day	42.218	438.504	0.178	35.659	52.261	128.568
	15 day	34.635	82.882	-	6.476	49.379	30.713

수치 1법과 2법은 수치 3법에 비하여 alkaloid 함량이 훨씬 감소하였으며 3종류의 alkaloid의 함량이 가공부자의 alkaloid 함량보다 낮아졌다. 수치 2법의 MeOH 추출물의 경우 다른 수치법에 비하여 alkaloid 함량이 현저히 감소하였으며 H<sub>2</sub>O 추출물은 중국산 초오에서 aconitine만 33.690  $\mu\text{g/g}$ 으로 검출되었고 다른 alkaloid는 검출되지 않았다. 수치 1법은 MeOH 추출물의 경우 alkaloid 함량이 전반적으로 수치 2법 정도로 감소하였으며 H<sub>2</sub>O 추출물의 경우 한국산에서 aconitine이 82.225  $\mu\text{g/g}$ , hypaconitine 107.467  $\mu\text{g/g}$  검출된 것을 제외하고는 수치 2법 정도로 감소하였다.

수치 2법은 하루에 2회 15일 동안 물을 갈아주어 1일, 2일, 3일, 5일, 7일, 11일, 13일, 15일의 갈아준 물에 함유된 alkaloid의 함량을 측정하였는데(Table III) 시간이 지날수록 alkaloid의 함량은 전반적으로 감소하였다. 수치 2법은 다른 수치법에 비하여 alkaloid 함량이 현저히 낮으므로 15일 동안 갈아준 물에 alkaloid가 많이 추출되어 함량이 감소하는 경향을 나타내었다.

증류수를 이용하여 전자오븐에서 5분 또는 10분간 처리하였을 때 (수치 3-1, 3-2법)한 중국산 MeOH 추출물의 경우 aconitine 116.0  $\mu\text{g/g}$  및 40.1  $\mu\text{g/g}$ , hypaconitine은 386.3  $\mu\text{g/g}$  및 145.7  $\mu\text{g/g}$ 으로써 함량이 수치전보다 저하되었으며 10분간 처리하였을 때 가공부자 수준으로 저하되었다. mesaconitine은 각각 628.3  $\mu\text{g/g}$ , 131.1  $\mu\text{g/g}$ 으로 5분간 처리할 때 가공부자 수준으로 함량이 저하되었다.

수치 3-4법은 1% NaHCO<sub>3</sub> 120 ml에 침적 후 10분간 마이크로파 처리하는 것인데 H<sub>2</sub>O 추출물의 경우 중국산에서 hypaconitine만 179.152  $\mu\text{g/g}$  검출될 뿐 mesaconitine과 aconitine은 검출되지 않았으며 1% NaHCO<sub>3</sub> 용액에 침적시킨 후 마이크로파 처리하였을 때는 전반적으로 가공부자의 alkaloid함량보다 훨씬 낮아졌다.

## 결 론

1. 초오는 수치 전에는 가공부자보다 상당히 많은양의 alkaloid를 함유하고 있으며 수치 후에는 수치전보다 alkaloid 함량이 감소하였으며 수치 방법에 따라 alkaloid의 함량은 현저히 달랐다.
2. 수치 1법과 2법은 수치 3법에 비하여 alkaloid 함량이 훨씬 감소하였으며 3종류의 alkaloid의 함량이 가공부자의 alkaloid 함량보다 낮아졌다.
3. 전자오븐에서 5분 또는 10분간 처리한 (수치 3-1, 3-2법) 중국산 MeOH 추출물의 경우 aconitine은 10분간 처리하였을 때 가공부자 수준으로 저하되었고 mesaconitine은 5분간 처리할 때 가공부자 수준으로 함량이 저하되었다. 1% NaHCO<sub>3</sub> 용액에 침적시킨 후 마이크로파 처리하였을 때(수치 3-4법)는 전반적으로 가공부자의 alkaloid 함량보다 훨씬 낮아졌다.

## 인용문헌

1. 中國 學科學院 葯物研究所(1979) 中葯志 第一冊, 137. 人民互生出版社, 北京.
2. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Chen, Z. L. and Kobayashi, K. (1982) *Chem. Pharm. Bull.* **30**: 758.
3. Kitagawa, I., Chen, Z. L., Yoshihara, M. and Yoshikawa, M. (1984) Chemical studies on the crude drug processing. II.<sup>1)</sup> Aconitine Tuber (I). On the constituents of Chuan-wu, the dried tuber of *Aconitum carmichaeli* DFUX. *Yakugaku Zasshi* **104**(8): 848-857.
4. 지형준, 이상인, 안덕균, 이경순, 이숙연, 이영중(1998) 대한약전 및 대한약전의 한약 규격 주해 제 2개정, 291-292, 595-596. 한국메디칼인텍스사, 서울.
5. 권승봉(1995) 본초학, 267-268. 영림사, 서울.
6. Hikino, H., Yamada, C., Nakamura, K., Sato, H., Ohizumi, Y.

- and Endo, K. (1977) Change of alkaloid composition and acute toxicity of Aconitum roots during processing<sup>1)</sup> *Yakugaku Zasshi* **97**: 359-366.
7. Kitagawa, I., Chen, Z. L., Yoshihara, M., Kobayashi, K., Yoshikawa, M., Ono, N. and Yoshimura, Y. (1984) Chemical studies on crude drug processing. III. Aconiti Tuber the constituents of "pao-fuzi", the processed tuber of *Aconitum carmichaeli* Debx, and biological activities of lipo-alkaloids. *Yakugaku Zasshi* **104**(8): 858-866.
  8. Kitagawa, I., Chen, Z. L., Yoshihara, M. and Yoshikawa, M. (1984) Chemical studies on crude drug processing. . Aconiti Tuber (3). Quantitative determination of aconitine alkaloids in Aconiti Tuber by means of High Performance Liquid Chromatography. *Yakugaku Zasshi* **104**(8): 867-872.
  9. Hikino, H., Konno, C., Watanabe, H. and Ishigawa, O. (1981) Determination of aconitine alkaloids by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography* **211**: 123-128.
  10. 中野 道晴, 山岸(1982) 高速液體クロマトグラフィ-による附子及び烏頭中の アコニチン系アルカロイドの定量. 道衛研所報, **32**: 21.
  11. Hikino, H., Murakami, M., Konno, C. and Watanabe, H. (1983) Determination of aconitine alkaloids in Aconitum roots. *Planta Medica* **48**: 67-71.
  12. Eom D. O., Han S.W., and Shin H. D. (2000) Determination of Aconitine and related alkaloids in processed Buza. *J. Pharm. Soc. Kor.* **44**(2): 135-140.
  13. 김창민 외(1998) 중약대사전, 5516-5523. 도서출판 정담, 서울.
  14. 김재길(1992) 임상응용 한약포제학, 304-307. 약업신문사 출판국, 서울.
  15. Yun-Choi, H. S., Yoo, K.S., Lee, S. Y., Lee, Y. H., Kwark, W. J. and Kim, K. H. (1990) Microwave irradiation, a new processing method of Aconiti Tuber. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**(4): 284-289.
  16. Pelletier, S. W. and Diarmati, Z. (1976) Carbon-13 nuclear magnetic resonance: Aconitine-type diterpenoid alkaloids from Aconitum and Delphinium species. *J. Am. Chem. Soc.* **98**: 2626-2636.
  17. Lee, M. T., Sung, H. K., Whang, W. K. and Kim, I. H. (1997) Alkaloids from the tuber of *Aconitum chiisanense*. *Yakhak Hoeji.* **41**(2): 161-173.

(2002년 10월 29일 접수)