

파극천의 품질 표준화 연구

이혜원 · 박소영 · 추병길 · 천진미 · 이아영 · 김호경*
한국한의학연구원 검사사업부

Standardization of *Morinda officinalis* How

Hyewon Lee, Soyoung Park, Byungkil Choo, Jinmi Chun, Ayeong Lee, and Hokyoung Kim*

Department of Quality Control of Herbal Medicine, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

Abstract – *Morinda officinalis* How. (Rubiaceae) has been used as tonic, warming, sex impulse and anti-inflammatory agents. Two known anthraquinones, rubiadin-1-methyl ether (I) and rubiadin (II) were isolated from root of *M. officinalis*. Their structures were identified using NMR and literature comparisons. The contents of I in eighteen *M. officinalis* were evaluated by HPLC-PDA. Chromatography was performed using a reversed-phase system with Luna C₁₈ (2) column and acetonitrile-water (50:50, v/v) with a flow rate of 1.0 mL/min under UV 280 nm. Under these conditions, the content of rubiadin-1-methyl ether was 0.013%.

Key words – *Morinda officinalis* How., rubiadin, rubiadin-1-methyl ether, HPLC-PDA

파극천은 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하는 덩굴성 다년생 초본 파극천(*Morinda officinalis* How)의 뿌리를 건조한 것으로 한방에서는 腎臟補陽, 壯筋骨, 祛風濕, 不起, 強筋骨, 補中增志, 益氣益, 腰膝酸痛 등에 이용한다.^{1,4)} 약리작용으로는 추출물을 이용한 성기능 개선, 항우울증, 항스트레스, 면역기능 강화, 소염 작용 등이 보고 된 바 있으며 남자의 발기불능, 부인의 월경불순, 소변실금, 白濁 등의 치료에도 처방하는 것으로 알려져 있다.^{1,4)}

파극천의 주요성분으로 비타민 C와 당류, rubiadin, rubiadin-1-methyl ether, physcion, β -stigmasterol, palmitic acid, nonadecane 등이 보고되어 있다.¹⁾ 또한, iridoid계 물질인 morindoleide와 morofficinaoside,⁵⁾ tectoquinone,⁶⁾ alizarin 1-methyl ether,⁷⁾ lucidin- ω -methyl ether,⁸⁾ 1-hydroxy-3-hydroxymethyl anthraquinone⁹⁾, β -sitosterol, oxositosterol,¹⁰⁾ rotungenic acid,¹¹⁾ (4R,5S)-5-hydroxyhexan-4-olide¹²⁾ 등의 성분도 보고된 바 있다. 이들 성분 가운데 anthraquinone류 화합물은 항바이러스,^{13,14)} 항박테리아,^{15,16)} 항암활성^{17,18)} 등의 치료 효과가 있다고 보고되었다. 따라서 본 연구는 파극천의 주요성분이며 활성성분인 anthraquinone류 화합물을 분리하고 지표성분으로 설정하여 국내·외 유통되고 있는 파극천의 이화학적 규격 및 성분함량을 분석하여 품질기준

을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 – 본 연구에 사용한 파극천은 서울 경동시장에서 구입하여 성분분리에 사용하였고, 서울과 대전, 대구 및 중국의 약령시장에서 유통되는 것을 구입하여 분쇄한 후 정량 실험에 사용하였다.

시약 및 기기 – 본 실험에 사용한 시료의 추출 및 분석에는 1등급시약을 사용하였고, HPLC 분석을 위한 용매는 Fisher chemicals (USA)사의 HPLC급 시약을 사용하였다. TLC plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄와 RP-18 F_{254s} (Merck)를 사용하였고, HPLC는 Waters (USA)사의 Alliance 2695 system, Photodiode Array Detector 2996 system, column은 Luna C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μ m, Phenomenex), ¹H-NMR은 Bruker DNX 600 MHz, ¹³C-NMR은 Bruker DNX 150 MHz (Germany), FAB-MS는 JMS-AX505WA (JEOL, Japan), HP 5890 Series II (USA)을 사용하였다.

건조감량, 회분함량, 산불용성회분함량, 엑스함량 시험 – 대한약전 일반시험법 중 생약시험법에 준하였으며²⁾ 한 시료당 3회 반복 시험하여 평균±표준 편차 또는 오차로 나타내었다.

지표성분의 분리 – 건조한 파극천 11.42 kg을 분쇄하여

*교신저자(E-mail) : hkkim@kiom.re.kr
(FAX) : 042-863-9434

70% 메탄올로 4시간씩 4회 환류추출 한 후 여과, 감압 농축하여 얻어진 메탄올 엑스를 증류수로 현탁 후 동량의 핵산, 에틸아세테이트, 부탄올을 순차적으로 가하여 3회 분획 후 감압농축 하여 핵산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 엑스를 얻었다. 이 중 에틸아세테이트 엑스를 silica gel을 이용하여 column chromatography를 실시하였으며 이동상으로는 메틸렌클로라이드와 핵산 혼합액 (1:1), 메틸렌클로라이드, 메탄올의 순으로 순차적인 gradient 조건으로 용출하여 노란색 분말형 물질 compound 1을 얻었다. 또한, 핵산 엑스를 silica gel을 이용하여 column chromatography를 실시하였으며 이동상으로는 메틸렌클로라이드와 핵산 혼합액 (1:1), 메틸렌클로라이드, 에틸아세테이트 순으로 순차적인 gradient 조건으로 용출하여 Fr. 1~5를 얻었다. 그 중 Fr. 5를 ODS gel을 이용한 column chromatography를 실시하고 이동상으로 70% 메탄올로 용출하여 노란색 분말형 물질 compound 2를 얻었다(Scheme I).

Compound 1 - Yellow powder; positive-mode FAB-MS m/z : 268 [M^+]; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ ppm 2.15 (3H, s, -CH₃), 3.78 (3H, s, -OCH₃), 7.50 (H, s, H-4), 7.83 (1H, dt, $J=7.8$, $J=7.2$, H-7), 7.88 (1H, dt, $J=7.8$, $J=7.2$, H-6), 8.10 (1H, d, $J=7.8$, H-5), 8.14 (1H, d, $J=7.8$, H-8); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), δ ppm 182.58 (C-9), 180.16 (C-10), 161.58 (C-1), 160.59 (C-3), 134.51 (C-7), 134.49 (C-6), 133.72 (C-12), 133.34 (C-11), 132.05 (C-14), 126.63 (C-8), 126.14 (C-5), 126.03 (C-9), 117.92 (C-13), 108.98 (C-2), 60.59 (C-15, OCH₃), 9.02 (C-16, CH₃).

Compound 2 - Yellow powder; positive-mode FAB-MS m/z : 254 [M^+]; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ ppm

2.08 (3H, s, -CH₃), 7.26 (H, s, H-4), 7.90 (2H, m, H-6, 7), 8.13 (1H, m, H-5), 8.20 (1H, m, H-8); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz), δ ppm 186.02 (C-9), 181.86 (C-10), 163.24 (C-1), 162.43 (C-3), 134.48 (C-7), 134.32 (C-6), 133.06 (C-12), 132.88 (C-11), 131.72 (C-14), 126.63 (C-8), 126.30 (C-5), 117.25 (C-2), 108.78 (C-13), 107.55 (C-4), 9.02 (C-15, CH₃).

함량 분석

검액의 조제 - 분쇄한 과극천 약 2g을 정밀히 달아 메탄올 25 mL을 넣고 3시간 초음파로 추출한 다음 여과하고 잔류물에 메탄올 25 mL을 넣어 같은 방법으로 조작하여 정확하게 50 mL로 한 후 0.45 μ m membrane filter로 여과한 것을 검액으로 하였다.

표준검량선의 작성 - Compound 1 1.09 mg을 정밀하게 달아 DMSO 1 mL에 녹이고 메탄올로 정확하게 10 mL로 하여 이것을 stock solution으로 단계적으로 희석하여 검액을 만들어 검량용 표준용액으로 하였다. 각 표준용액 10 μ L를 취하여 HPLC로 분석하여 chromatogram의 면적을 구하

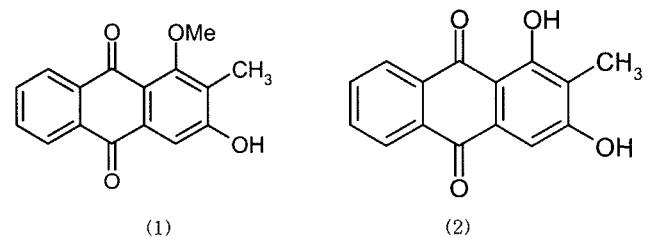
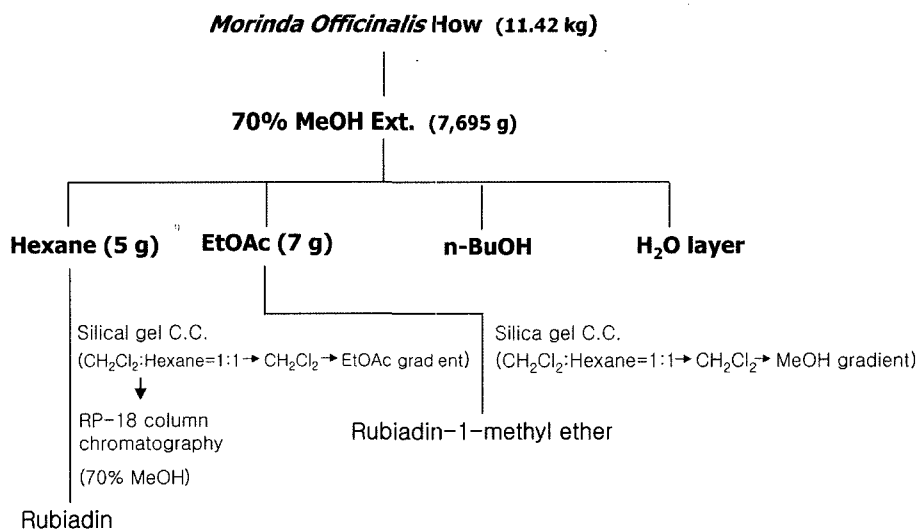


Fig. 1. Chemical structures of rubiadin-1-methyl ether (1) and rubiadin (2).



Scheme I. Isolation of standard compounds from *Morinda officinalis* How.

고 농도와 면적에 따른 검량선을 그어 함량계산을 실시하였다. 회귀방정식은 $y=41559x-150388(R^2=0.9998)$ 으로 직선성을 나타내었다.

HPLC 분석조건 - HPLC는 Waters Alliance 2695 system 과 Waters 2996 Photodiode Array Detector (USA), column 은 Luna C₁₈(2) (4.6×250 mm, 5 μm, Phenomenex)를 사용하였고, 이동상으로는 아세토나이트릴:물=50:50 (v/v) 혼합액을 사용하였다. 유속은 1.0 mL/min, 파장은 PDA 분석 후 최적파장을 280 nm로 고정하여 측정하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 파극천의 성분을 분리하여 지표성분으로 설정하고 정제법을 확립하여 표준품을 보유하고 HPLC 분석기기를 이용하여 객관적이고 과학적인 함량분석법을 확립하고자 하였다. 또한 국내·외 유통품의 건조감량, 회분함량, 산불용성 회분함량 등의 이화학적 규격과 성분함량을 분석함으로써 유통품의 품질을 평가하고자 하였다.

건조감량 시험 - 건조감량은 평균 $12.4 \pm 2.52\%$ 로 시료에

따라 8.05~18.74%의 범위 내에 있었다. 공정서 기준은 10% 이하로 공정서 기준 이하를 나타낸 품목은 3점이며, 그 외 15점은 기준치 이상으로 유통품의 건조 상태가 좋지 않은 것으로 나타나 유통품의 건조상태에 대한 관리가 요구된다 (Table I).

회분함량 시험 - 회분함량은 평균 $3.9 \pm 0.63\%$ 로 시료에 따라 3.00~5.36%의 범위 내에 있었다. 공정서 기준은 6.0% 이하로 시료 모두 기준치 이하를 나타내어 적합하였다 (Table I).

산불용성회분함량 시험 - 산불용성회분 함량은 평균 $1.0 \pm 0.30\%$ 로 시료에 따라 0.66~1.81%의 범위 내에 있었다. 2점의 시료를 제외하고 모든 시료가 1.5% 이하를 나타내어 현행 공정서에는 기준이 설정되어 있지 않으므로 기준을 1.5% 이하로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다 (Table I).

묽은에탄올엑스함량 시험 - 묽은에탄올엑스 함량은 평균 $66.2 \pm 4.24\%$ 로 시료에 따라 53.46~73.53%의 범위 내에 있었다. 시료 모두 52%이상으로 공정서 규격에 적합한 결과가 나왔으며 1점의 시료를 제외하고는 공정서 기준보다 10% 이상 많은 함량을 나타내었다 (Table I).

Table I. Contents of rubiadin-1-methyl ether, loss on drying, ash, acid-insoluble ash, and amount of water and dilute ethanol extracts from Morindae Radix

Sample	Collection place	Loss on drying (%)	Ash (%)	Acid-insoluble ash (%)	Extraction (%)		Rubiadin-1-methylether (%)
					Dilute ethanol soluble	Water soluble	
1	Seoul	8.05	3.98	0.88	67.36	67.61	0.012
2		10.84	3.66	0.87	67.28	62.52	0.014
3		9.34	3.37	0.78	69.30	66.20	0.013
4		11.02	3.14	0.67	66.86	68.54	0.014
5		18.74	3.34	0.86	63.08	63.11	0.013
6	Daejeon	12.44	4.43	1.25	62.34	64.88	0.013
7		12.23	3.96	1.06	65.29	64.15	0.016
8		9.60	4.18	1.06	62.30	42.71	0.012
9		15.65	3.46	0.94	67.25	66.34	0.013
10		11.10	3.55	0.82	68.12	65.70	0.013
11		11.57	5.36	1.81	53.46	60.38	0.013
12	China	11.59	5.26	1.65	65.05	71.25	0.014
13		14.42	3.00	0.72	67.64	65.48	0.014
14		15.23	3.53	0.85	71.70	74.28	0.013
15	Daegu	12.14	3.78	0.98	64.95	74.94	0.014
16		13.36	3.36	0.66	69.89	77.12	0.012
17		13.15	4.12	1.04	66.35	73.86	0.013
18		12.45	3.95	0.93	73.53	68.08	0.013
mean		12.4	3.9	1.0	66.2	66.5	0.013
SD		2.52	0.63	0.30	4.24	7.34	0.001

물엑스함량 시험 - 물엑스의 함량은 평균 $66.5 \pm 7.34\%$ 로 묽은에탄올엑스 함량과 큰 차이는 없었으나 시료에 따라 42.71~77.12%의 범위 내에 있었다. 1점의 시료를 제외하고는 모든 시료가 52.0% 이상을 나타내어 현행 공정서에는 기준이 설정되어 있지 않으므로 기준을 52.0% 이상으로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다(Table I).

성분분리 및 정량분석 - 파극천의 지표물질로서 rubiadin과 rubiadin-1-methyl ether를 순수 분리하였다. 파극천을 메탄올로 추출하고 순차적으로 용매분획을 하여 헥산과 에틸아세테이트 분획물을 얻어 column chromatography를 반복 실시하여 각각 노란색의 분말형 물질을 얻을 수 있었다. 이들 화합물은 이화학적 성상 및 ^1H , ^{13}C -NMR, FAB-MS 등 spectral data를 문헌¹⁹⁻²⁰과 비교하여 compound 1은 rubiadin-1-methyl ether, compound 2는 rubiadin임을 확인하였다.

Rubiadin-1-methyl ether와 rubiadin은 파극천에 특이적인 2차 대사산물로 알려져 있으나 rubiadin은 함량이 미미하여 본 실험에서는 그 함량이 더 많고 함량분석이 용이한 rubiadin-1-methyl ether를 지표성분으로 설정하여 함량을 분석하였다. HPLC는 Waters Alliance와 Waters photodiode array detector를 사용하고 컬럼은 Luna C₁₈(2) (5 μM , 4.6 \times 250 mm, Phenomenex), 이동상은 물:아세트오나이트릴 혼합액(50:50), 유속은 1.0 mL/min, 파장은 280 nm에서 최적의 조건을 얻을 수 있었다. 이러한 조건으로 HPLC 분석 결과 파극천으로부터 분리한 rubiadin-1-methyl ether의 피크를 Rt. 9.872 min에서 확인할 수 있었다(Fig. 2).

파극천은 국내에서 생산되지 않으므로 국내·외 지역에서 유통되는 파극천 중국산 18점에 대한 함량을 분석한 결과 평균 $0.013 \pm 0.001\%$ 를 나타내었고 시료 모두 0.01% 이상을 나타내었으므로 지표성분을 rubiadin-1-methyl ether로 설정하고 함량 기준을 0.01% 이상으로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다(Table I).

결 론

1. 파극천의 헥산과 에틸아세테이트 분획물에서 분리한 성분을 NMR 등의 기준문헌 기기분석 data와 비교한 결과 파극천의 주성분인 rubiadin-1-methyl ether와 rubiadin으로 동정하였다.

2. 국내·외 유통되는 파극천 18점을 구입하여 이화학적 규격시험 결과 건조감량 시험은 평균 $12.4 \pm 2.52\%$ 로 15개의 시료가 대한약전의한약(생약)규격집에 규정하고 있는 10% 이상으로 건조 상태가 좋지 않은 것으로 나타났고, 회분함량은 평균 $3.9 \pm 0.63\%$ 로 모든 시료가 6% 이하로 공정서 기준에 적합하였다. 산불용성회분함량은 평균 $1.0 \pm 0.30\%$ 로 나타났으나 2점의 시료를 제외하고 모든 시료가 1.5% 이하를 나타내어 기준을 1.5% 이하로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다. 묽은에탄올엑스 함량은 평균 $66.2 \pm 4.24\%$ 로 모든 시료가 52% 이상으로 규정에 적합하였으며, 물엑스 함량은 $66.5 \pm 7.34\%$ 로 나타났으나 1점의 시료를 제외하고는 모두 52.0% 이상을 나타내므로 기준을 52% 이상으로 규정하는 것이 타당하다고 사료된다.

3. 파극천 국내·외 유통품 중국산 18점을 구입하여 분리 방법과 함량분석이 용이한 rubiadin-1-methyl ether의 함량을 분석한 결과 평균 0.013%를 나타내었고 시료 모두 0.01% 이상을 나타내었으므로 함량 기준을 0.01% 이상으로 하는 것이 타당하다고 사료된다.

인용문헌

1. 김호철 (2004) 한약약리학, 443-445. 집문당, 서울.
2. 지형준, 이상인 편저 (1989) 대한약전의한약(생약)규격집 주해서, 494. 한국메디칼인텍스사, 서울.
3. 전국한의과대학본초학교수 공편저 (2000) 본초학, 549-550. 영림사, 서울.

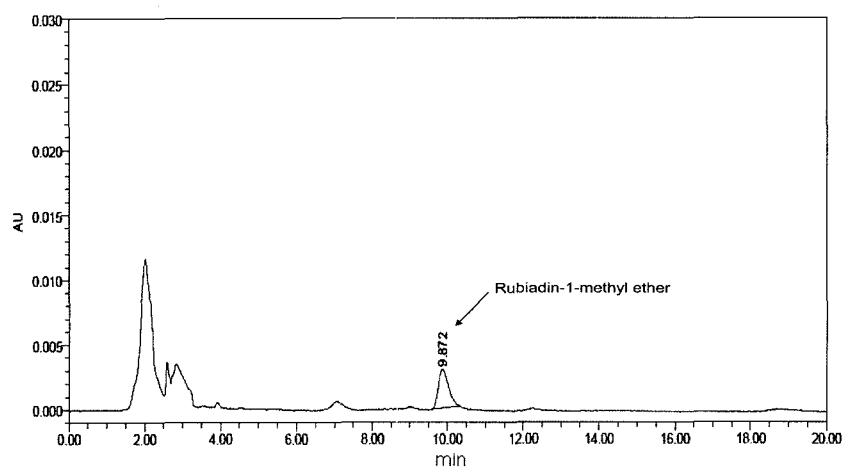


Fig. 2. HPLC Chromatogram of Morindae Radix.

4. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외 (1998) 중약대사전, vol. 10, 5766-5770. 도서출판 정담, 서울.
5. Masayuki, Y., Shoko Y., Hiroko N., Johji Y. and Nobutoshi M. (1995) Chemical constituents of Chinese natural medicine, Morindae Radix, the dried roots of *Morinda officinalis* How.; Structures of Morindolide and Morofficaloside. *Chem. Pharm. Bull.*, **43**(9): 1462-1465.
6. Joshi, K. C., Singh, P. and Pardasani, R. T. (1977) Chemical components of the roots of *Tectona grandis* and *Gmelina arborea*. *Planta Medica*, **32**(1): 71-75.
7. Kuiper, J. and Labadie, R. P. (1981) Polyploid complexes within the genus *Galium* part; Anthraquinones of *Galium album*. *Planta Medica*, **42**(4): 390-399.
8. Chang, P. and Lee, K. H. (1984) Cytotoxic antileukemic anthraquinones from *Morinda parvifolia*. *Phytochemistry*, **23**(8): 1733-1736.
9. Imre, S., Tulus, R. and Sengn, I. (1971) Zwei neue anthrachinon-verbindingen aus *digitalis ferruginea*. *Tetrahedron Lett.*, **12**(48): 4681-4683.
10. Greca, M. P., Monaco, P. and Previtera, L. (1990) *Stigmatoterols* from *typha latifolia*. *J. Nat. Prod.*, **53**(6): 1430-1435.
11. Nukatani, M., Miyazaki, Y., Iwashita, T., Naoki, H. and Hase, T. (1989) Triterpenes from *Ilex rotunda* fruits. *Phytochemistry*, **28**(5): 1479-1482.
12. Numata, A., Hokimoto, K., Takemura, T., Katsuno, T. and Yamamoto, K. (1984) Plant constituents biologically active to insects. V. Antifeedants for the Larvae of the Yellow Butterfly, *Eurema hecabe mandarina*, in *Osmunda japonica*. (1). *Chem. Pharm. Bull.*, **32**(7): 2815-2820.
13. Kotama, J., Moritaa, I., Tagaharaa, K., Mukainakab, O. T., Tokudab, H. and Nishinob, H. (2001) Inhibitory effects of anthraquinones and bianthraquinones, Epstein-Barr virus activation, *Cancer Lett.*, **170**(1): 15-18.
14. Taloua, J. R., Verbernea, M. C., Muljonoa, R. A. B., Tegelelenc, L. J. P., Bernala, B. G., Linthorstb, H. J. M., Wullemsc, G. J., Bolb, J. F. and Verpoortea, R. (2001) Isochorismate synthase transgenic expression in *Catharanthus roseus* cell suspensions, *Plant Physiol. Biochem.*, **39**: 595-602.
15. Loy, G., Cottiglia, F., Garau, D., Deidda, D., Pompei, R. and Bonsignore, L. (2001) Chemical composition and cytotoxic and antimicrobial activity of *Calycotome villosa* (Poiret) Link leaves, *II Farmaco*, **56**(5-7): 433-436.
16. Babu, K. S., Srinivas, P. V., Praveen, B., Kishore, K. H., Murty, U. S. and Rao, J. M. (2003) Antimicrobial constituents from the rhizomes of *Rheum emodi*, *Phytochemistry*, **62**(2): 203-207.
17. Sadeghi-Aliabadi, H., Tabarzadi, M. and Zarghi, A. (2004) Synthesis and cytotoxic evaluation of two novel anthraquinone derivatives. *II Farmaco*, **59**(8): 645-649.
18. Hiramatsu, T., Imoto, M., Koyano, T. and Umezawa, K. (1993) Induction of normal phenotypes if ras-transformed cells by damnacanthal from *Morinda citrifolia*. *Cancer Lett.*, **73**(3): 161-166.
19. Brisson, C. and Brassard, P. (1981) Regiospecific reactions of some vinylogous ketone acetals with haloquinones and their regioselective formation by dienolization. *J. Org. Chem.*, **46**(9): 1810-1814.
20. Rath, G., Ndonzao, M. and Hostettmann, K. (1995) Antifungal anthraquinones from *Morinda lucida*. *J. Nat. Prod.*, **59**(2): 107-114.

(2006년 8월 17일 접수)