

韓國產 附子類 生藥에 대한 研究(I)

노랑투구꽃의 成分 研究 및 관련된 附子類의 毒性 比較

鄭普燮 · 金信根 · 李炯圭 · 金勝漢

서울대학교 약학대학

Studies on Korean *Aconitum* Species(I)

An Alkaloid of *Aconitum sibiricum* and the Comparison of Toxicities among Related *Aconitum* Species

Bo Sup CHUNG, Sin Keun KIM, Hyung Kyu LEE, and Seung Han KIM

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—The structure of tuguaconitine, mp 196~198°C, a new diterpene alkaloid isolated from the roots of *Aconitum sibiricum* P., was studied. Its empirical formula is $C_{23}H_{35}NO_7$ and spectroscopic evidence shows that the base contains three methoxyl, three hydroxyl and one N-ethyl groups. The acute toxicities of most of *Aconitum* species were strong and the acute toxicity of the alkaloid fraction of *A. sibiricum* was decreased by Glycyrrhizae, black bean or Zingiberis extract.

Keywords—*Aconitum sibiricum* · diterpene alkaloid · tuguaconitine · acute toxicity · antidotal effect

漢方藥의 중요한 위치를 차지하고 있는 부자류는 현재 수입에 대한 의존도가 높으며, 採取時期 및 修治法등이 일정하지 않아서 투여용량을 일률적으로 체중에 대한 비례식으로 정하는 것도 고려해야 한다.¹⁾ 따라서 수입부자류에 대신할 國產 附子類의 開發이 시급하고 중요하며 보다 많은 연구로 임상에 응용되어야 할 것이다.

한국산 *Aconitum*屬에는 20종 3변종 1품종이 보고 되어 있고²⁾, 同屬식물중 白附子, 附子, 草烏등이 한방에서 처방에 쓰이고 있으며,^{3,4)} 맹독성의 diterpene alkaloids가 함유되어 있어서 이들의 독성 및 생리작용이 많이 연구되어 있다.^{5,6)}

그러나 국산 *Aconitum*屬 식물중 노랑투구꽃에 대한 연구는 거의 되어있지 않으며, 우리나라 산지에서 흔히 볼 수 있는 식물이기 때문에 개발 가능성이 있다고 사료되어 본 식물에 대한 성분 연구를 착수하였다. 노랑투구꽃(*Aconitum sibiricum*)은 산지에 자생하는 多年草로서 葉은 短柄,

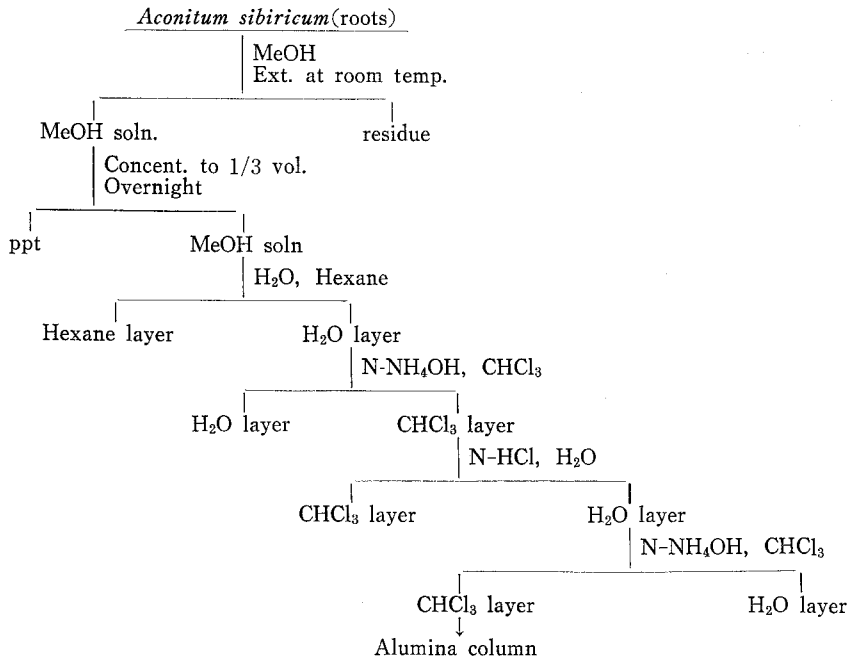
掌狀으로 5深裂, 裂片은 다시 細裂되어 있고 9월에 開花하며 꽃은 黃色이다.⁷⁾ 본 연구는 新 diterpene alkaloid로 사료되는 물질을 분리한 것이다.

東醫寶鑑에 따르면 「附子……有大毒……甘草, 人蔘, 生姜, 相配正制其毒也」, 「白附子……有小毒……」, 「草烏……有大毒……草烏一兩黑豆一合爲准……」 등으로 기재되어 있다. 즉, 白附子가 그중 독성이 약하고, 解毒내지 制毒효과로서 감초, 인삼, 생강, 黑豆등을 사용하는 것으로 되어 있다. 따라서 본 실험에서는 이들 부자류의 독성과, 노랑투구꽃의 alkaloid fraction에 대한 해독효과를 비교하였다.

實驗方法

1. 재 료

노랑투구꽃은 강원도 대화에서 8월에 채집한 지하부를 건조하여 사용하였다.



Scheme 1. Separation of alkaloid fraction from the roots of *Aconitum sibiricum* Poir.

노랑투구꽃은 Scheme 1에서 얻은 alkaloid fraction을 사용하였고, 백부자, 초오, 천오두, 감초, 건강,黑豆는 시판품을 구입하였으며, 부자는 국내재배품을, 포부자는 국내재배품으로 수취한 것을 사용하였다.

2. 추출, 분리 및 시료 조제

시료 2kg을 粗切하여 Methanol 5L로 수시로 진탕하면서 한달간 냉침한 후, 여과하고, 감압농축하였다. 이것을 Scheme 1과 같이 처리하여 alkaloid fraction을 얻었고, 이를 Alumina Column(용매, Ethylacetate : Benzene=1 : 20)을 이

용하여 분리한 결과, 정방형의 Compound I을 얻었으며, 이것을 ethylacetate-ether 혼합용매로 재결정하여 침상결정을 얻었다.

각 시료에 대한 추출조건은 Table I과 같다.

부자류의 CHCl₃ 추출액은 40°C 이하에서 감압농축하고 1% Tween 80 수용액에 부유시켜 10ml로 하였다. 증류수 추출액은 여과한 후 감압농축하여 100ml가 되게 하였으며, 포부자의 경우는 50ml로 하였다. 부자는 노랑투구꽃과 같은 방법으로 처리된 alkaloid fraction을 1% Tween 80 수용액에 부유시켜 5ml가 되게 하였다.

Table I. Extraction conditions of *Aconitum* species and crude drugs

Sample (Weight, g)	Solvent	Extraction temp. and time(hr.)
<i>A. koreanum</i> (50)	CHCl ₃ (200ml×3)	room temp. 24
<i>Aconitum</i> sp. ("Cho-O") (50)	"	"
<i>A. carmichaeli</i> ("Chōn-O-Doo") (50)	"	"
<i>A. carmichaeli</i> (detoxicated) (70)	dist. water(200ml)	boiling, 2
<i>Glycyrrhizae</i> Radix (200)	dist. water(700ml)	"
<i>Zingiberis</i> Rhizoma (200)	"	"
Black bean (200)	"	"
<i>Glycyrrh.</i> + <i>Zingiber.</i> (50+50)	dist. water(500ml)	"
<i>Glycyrrh.</i> + B. bean (50+50)	"	"

3. 시약 및 기기

추출용매는 공업용 시약을 사용전에 증류하여 사용하였고, 기타 시약은 분석용 1급시약을 사용하였으며, column chromatography용 흡착제로는 aluminium oxide 150(basic, 70~230mesh, E. Merck)을, TLC용 흡착제로는 silica gel G60 (E. Merck)을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기는 다음과 같다.

UV spectra는 Hitachi Model EPS-3T recording spectrometer, IR spectrum은 JASCO J-0041, NMR spectrum은 日本電子 FX200(200MHz), CMR spectrum은 日本電子 FX200 (50MHz), MP apparatus는 Gallenkamp(uncorrected), Mass spectrum은 日本電子 Mass spectrometer를 사용하였다.

4. 급성 독성 및 해독 효과

실험동물은 서울대학교 동물사육장으로 부터 ICR계 (25~35g) 웅성마우스를 공급받아 사용하였고, 먹이는 마우스용 일반고형사료로 하였다.

각 시료는 경구로 투여하였고, 관찰기간은 7일간으로 정하였다.

노랑투구꽃의 alkaloid fraction에 대한 LD₅₀ 측정은⁷⁾ 여섯 용량을 사용하였고, 1군은 10마리로 하여 실시하였으며, Litchfield-Wilcoxon 방법에 따라 계산하였다.

각 시료용액은 마우스당 0.5ml가 넘지 않도록 하였고, 단 1회 투여로 결과를 관찰하였다.

해독생약류의 투여량은 임의 결정하였고 이들에 대한 효과는 노랑투구꽃의 alkaloid fraction의 LD₅₀치에 가까운 100mg/kg을 적용하였다.

다른 부자류의 독성은 임의의 양을 투여하여 사망한 동물수로써 비교 기준을 삼았다.

結 果

1. 노랑투구꽃의 alkaloid 성분

Compound I은 서로 다른 용매 조성을 가진 3가지 전개용매 System들의 TLC 상에서 단일한 spot로 나타났고, Dragendorff시약에 의해 주홍색으로 발색되었다.

이 물질의 이화학적 성질은 다음과 같다.

mp 196~198°C, UV spectrum: 210nm 이상에

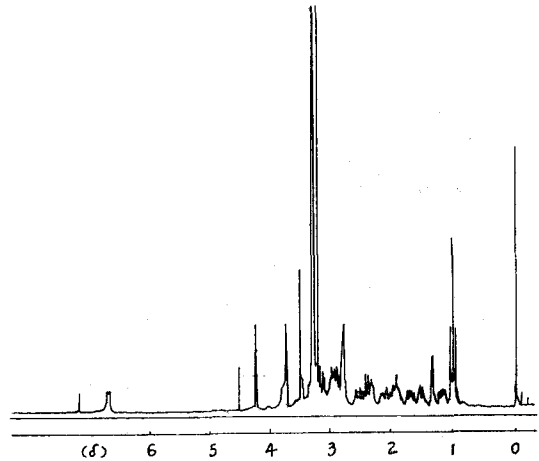


Fig. 1. the NMR spectrum of the compound I (200 MHz, CDCl₃, int. TMS standard).

서 흡수 없음.

IR spectrum 상에서 3,500cm⁻¹, 3,400cm⁻¹에서 hydroxyl group이 나타나고, 1,100cm⁻¹에서 ether(C-O-C) 결합이 나타났으며, carbonyl group은 없었다. H¹-NMR spectrum 상에서는 (Fig. 1)(δ), 3.42ppm, 3.41ppm, 3.36ppm에서 3개의 methoxyl group, 2.91ppm(singlet, 1H)에서 C₁₇-H, 1.08ppm(triplet, 3H, J=7Hz)에서 N-CH₂-CH₃ 등이 보였다. C¹³-NMR spectrum 상에서는 (Table V) 23개의 탄소에, off-resonance spectrum으로 볼 때, 4개의 singlet, 10개의 doublet, 5개의 triplet, 4개의 quartet로 보아 탄소에 붙어있는 수소는 32개로 나타났으며 carbonyl 또는 double bond carbon은 없었다. Mass spectrum에서는 m/e 437의 M⁺ peak(83%)가 나타났고, 그 밖에 422(100%), 406(40%), 394(20%), 311(7%), 268(32%), 222(8%), 130(3%), 114(12%), 58(38%) 등의 peak를 보였다. High Mass data에 의한 437. 24241로부터 분자식은 C₂₃H₃₅NO₇으로 나타났다.

Table II. LD₅₀ value of alkaloid fraction from *A. sibiricum*

Sample	animal	Route of administration	LD ₅₀ mg/kg
Alkaloid fraction	mouse	p.o.	112.2 (62.0-203.1) ^{a)}

a) 95% confidence limit

Table III. Antidotal effects of crude drug extracts on the alkaloid fraction from *A. sibiricum*

Sample	Crude drug extracts given simultaneously	Dose mg/kg, p.o.	No. died/No. treat.
Alkaloid fraction		100	
	Glycyrrhizae Radix	700	2/10
Alkaloid fraction		100	
	Black bean	700	1/10
Alkaloid fraction		100	
	Glycyrrhizae Radix	350	
	Black bean	350	1/10
Alkaloid fraction		100	
	Glycyrrhizae Radix	350	
	Zingiberis Rhizoma	350	0/10

2. 노랑투구꽃의 alkaloid fraction에 대한 LD₅₀

Table II에 표시한 바와 같이 마우스의 경구 투여의 경우에 112.2mg/kg이었다.

3. 수종 생약 엑기스에 의한 *A. sibiricum*의 독성 감소

본 결과는 Table III와 같다. *A. sibiricum*의 alkaloid fraction 100mg/kg 및 감초 700mg/kg의 병용 투여시 치사율이 20% 밖에 되지 않았으며, Black bean을 병용 투여하였을 때와, 감초 350mg/kg과 Black bean 350mg/kg의 혼합물을 투여했을 때는 10% 정도로 치사율이 감소되었다. 감초 350mg/kg과 생강 350mg/kg의 혼합물의 병용 투여시는 사망율이 0으로 나타났다.

4. 부자류의 독성 비교

백부자와 초오의 독성은 거의 유사한 치사율

Table IV. The lethality of mice by the extracts of *Aconitum* species

Extract	Dose mg/kg, p.o.	No. died/No. treat.
<i>A. koreanum</i>	122	0/15
	609	5/10
<i>A. carmichaeli</i> (Chon-o-doo)	126	3/15
<i>Aconitum</i> spp. (Cho-o)	147	0/15
	734	3/10
<i>A. carmichaeli</i> (Cultivated in Korea)	62	15/15
	124	10/10
<i>A. carmichaeli</i> (Detoxicated)	2,330	0/15

을 보였고(각각 609mg/kg에서 50%, 734mg/kg에서 30%), 천오두의 경우는 약간 더 강한 독성을 보였다(126mg/kg에서 20%). 부자의 경우는 노랑투구꽃의 LD₅₀치인 112.2mg/kg에 비해 훨씬 독성이 강하게 나타났다(62mg/kg에서 100%). 포부자는 2330mg/kg의 투여량에서도 치사율은 0이었다.(Table IV)

考 察

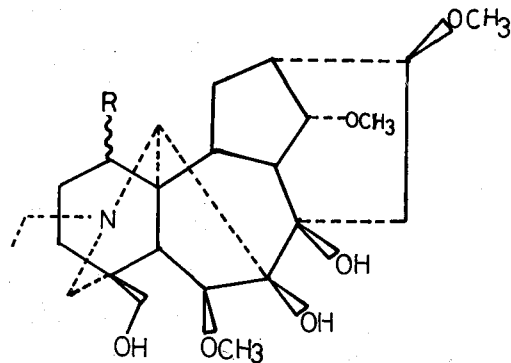
Compound I은 그 분리 방법과 dragendorff 시약에 의한 발색으로 보아 alkaloid의 일종으로 사료되었으며, *Aconitum*屬에서는 일반적으로 diterpene alkaloid들이 많이 분리 보고되었다.⁸⁻¹⁰⁾

Compound I은 3개의 methoxyl기(NMR δ3.42, 3.41, 3.36, CMR 58.8, 57.6, 56.3ppm), N-ethyl기(NMR δ1.08 J=7Hz: CMR 14.0ppm)를 가지고 있으며, 이중결합이 없는 점으로 보아(UV, CMR) C-19 diterpene alkaloid로 생각할 수 있었다.^{11,12)}

High mass(437.24)와 CMR(23C)에 의한 분자식은 C₂₃H₃₅NO₇으로 사료되었으며 탄소 23개중 N-ethyl기와 methoxyl기의 탄소를 제외하면 골격의 탄소는 18개로 기본골격에서 1개가 부족하며 이것은 C₄ 위치의 18번 탄소가 떨어져 나간 것으로 추정되었다.¹³⁾

산소원자 7개중 3개는 methoxyl기의 형태로 존재하며(NMR, CMR), CMR의 32H를 보아 다른

3개는 OH의 형태로 되어 있다고 생각할 수 있으며, 또 다른 하나는 ether성 산소로 사료되었다. 분자식($C_{23}H_{35}NO_7$)에 의한 불포화도는 7로 C-19 diterpene alkaloid의 기본 골격에 의한 불포화도 6외에 다른 하나의 이중결합이나 ring이 예상되었으며, 기기분석 data상에 이중결합이 없고 (UV, CMR), 구조가 유사한 lycocotinine이나 gigactonine과 비교하여 볼때 (Table V, Chart 1) 1번 탄소와 12번 탄소, 또는 1번 탄소와 19번 탄소 사이의 ether 결합을 생각할 수 있다. C₁-C₁₉간의 ether 결합은 C₁₉의 chemical shift가 산소와 질소의 α -effect에 의해서 크게 down field shift를 일으킬 것이나, OFR spectrum에서 doublet이면서 약 80ppm을 넘는 peak는 4개만이 나타나는 것으로 보아(C₁: 77.9, C₆: 90.5, C₁₄: 84.4, C₁₆: 83.0ppm) C₁-C₁₉간의 연결은 아니며, 더구나 mass spectrum에서 M⁺-C₂H₂O의 peak¹⁸⁾가 나타나지 않은 것은 C₁-C₁₂간의 ether 결합이 더 타당함을 뒷받침하는 것으로 사료된다. 1번 탄소의 산소의 결합상태는 그것이 α 결합이든 β 결합이든 C₁-O-C₁₂의 ether 결합상태에서는 H¹-NMR이나 C¹³-NMR 상에서는 구별할 수 없으나 (C₁-H의 chemical shift와 coupling constant가 거의 동일), 12번 탄소와 산소간의 결합상태는 분자 모델의 형성상 α 결합은 용이하나 β 결합은 매우 어려운 점을 미루어 이것은 α 결합일 가능성이 크다고 본다. proton NMR spectrum에서, C₆- α H은 C₅-H와 거의 90°의 각을 이루고 있어서 Singlet(3.9ppm)으로 나타나며, 3.5ppm(d)



gigactonine(R= α -OH)
lycocotinine(R= β -OCH₃)

Chart 1. the structures of lycocotinine and gigactonine

Table V. CMR chemical shift data of the lycocotinine,⁹⁾ gigactonine and compound I

	gigactonine	lycocotinine	compound I
1.	72.7	82.7	77.9(d)
2.	29.4	28.8	30.8(t)
3.	30.5	31.7	31.7(t)
4.	38.2	38.6	58.7(s)
5.	44.7	49.7	42.8(d)
6.	90.6	90.6	90.5(d)
7.	87.8	88.4	89.6(d)
8.	78.5	77.6	78.5(s)
9.	43.4	43.3	43.4(d)
10.	44.0	46.1	48.9(d)
11.	49.4	48.9	54.0(s)
12.	26.7	26.2	58.5(d)
13.	37.8	38.1	38.1(d)
14.	84.6	84.3	84.4(d)
15.	33.5	33.6	33.5(t)
16.	83.0	84.0	83.0(d)
17.	66.1	64.9	67.0(d)
18.	66.8	67.7	—
19.	57.3	52.7	54.4(t)
N-CH ₂	50.4	51.2	49.9(t)
CH ₃	13.6	14.2	14.0(q)
6'.	57.7	57.8	57.6(q)
14'.	57.7	57.8	58.8(q)
16'.	56.4	56.3	56.3(q)

및 3.0ppm(m)의 signal은 C₁₄- β H와 C₁₆- α H로 추정되며¹⁹⁾, C₁- α H 혹은 C₁- β H의 signal이 3.0ppm에 겹쳐진 것으로 사료된다.

급성 독성 시험에서 천오두, 백부자, 초오중에서는 천오두가, 부자와 노랑투구꽃 중에서는 부자가 독성이 가장 강했다. 「東醫寶鑑」에 「有大毒」이라고 기록된 초오보다는 「有小毒」의 백부자가 더 강한 독성을 보였다. 이것은 비록 CHCl₃ 추출물 상태에서의 비교에 지나지 않지만 대부분의 이 계통의 alkaloid 성분이 CHCl₃에 용출되어 나온다는 점에서 고려한다면, 시중 초오의 기원 식물이 확실하지 않음과 여러 유사식물의 혼합물일 가능성¹⁴⁾도 이 독성의 차이와 관련이 있을 것으로 사료된다.

부자와 노랑투구꽃의 alkaloid fraction은 일차

적으로 정제된 extract이기 때문에 다른 부자류와 직접 비교할 수는 없겠으나, 노랑투구꽃도 부자에 비하면 약하지만 독성이 있음을 알 수 있으며 추후 계속된 연구로써 새로운 국산 부자류 생약으로 개발될 가능성이 있으리라 여겨진다.

천오두는 *Aconitum carmichaeli* Deb.의 子根을 건조한 것으로 干附子, 川附子라고도 하며, 일본에서의 통칭으로 쓰이는 명칭이며^{15,16)}, 주로 중국 四川省 재배품을 말한 것으로 생각된다. 결국 천오두와 실험에 사용된 국산 재배부자는 기원은 같으나 독성면에서 차이를 나타냈는데, 이는 재배환경도 다르고, 저장기간에 따른 성분과 독성의 변화도 고려한다면¹⁷⁾, 다시 한번 검토되어야 할 것이다.

解毒 또는 制毒생약으로 쓰이는 甘草, 黑豆, 乾姜은 확실히 동물에 대한 치사율을 현저하게 감소시켰고, 부자중독에 상용되어 왔던 사실과 잘 일치되었다.

포부자의 경우는 이미 기존 보문에 의한 것 같이 독성은 거의 없었으며, 열처리 과정에서 온도와 시간에 따라 성분의 변화와 치사량에 차이가 있을 것으로 사료된다.

結 論

1. 노랑투구꽃(*Aconitum sibiricum* P.)으로 부터 alkaloid로 사료된 compound I을 얻었다.
2. Compound I의 구조는 다음과 같으며 문헌상 일치하는 것이 없으므로 tuguaconitine이라고 잠정적으로 명명하였다(Chart 2).

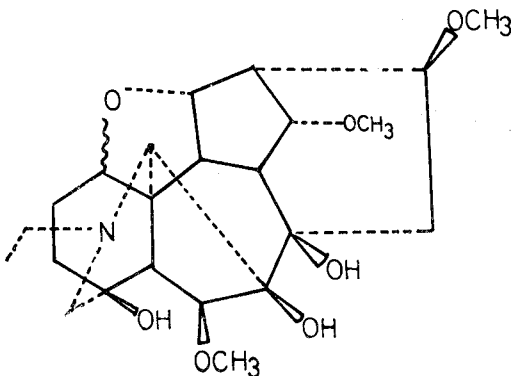


Chart 2. Tuguaconitine

3. 노랑투구꽃의 alkaloid fraction에 대한 LD₅₀은 112.2mg/kg이었다.

4. 부자류 생약의 급성독성을 비교 실험한 결과, CHCl₃ 엑기스로서는 천오두가 가장 강했고, 백부자, 초오 순으로 독성을 보였으며, alkaloid fraction에 대한 독성은 부자가 강하고 노랑투구꽃이 더 약한 독성을 나타냈다.

謝辭—본 연구비의 일부는 문교부 학술연구 보조비로 이루어졌음을 알리며, 이에 감사드리는 바이다. (1984년 4월 10일 접수; 5월 26일 수리)

文 獻

1. 高橋眞太郎: 生藥治療(漢方과 漢藥) 11卷 4號, 990, 1944.
2. 이창복: 大韓植物圖鑑, p. 363 (1980).
3. 江蘇新醫學院編: 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, p. 1191, p. 1577, (1978).
4. 許 凌: 東醫寶鑑
5. 總合漢法研究會編: 附子の 研究, 文獻篇.
6. Pelletier, S.W. and Mody, N.V.: *J. Nat. Prod.*, 43, 41 (1980).
7. Hayes, A.W.: Principles and Methods of Toxicology, Raven Press, New York, p. 299 (1982).
8. 一戶良行: 化學的 領域, 32, 27 (1978).
9. Sakai, S. et al.: 藥學雜誌, 98, 1376 (1978).
10. Pelletier S.W. et al: *Tetrahedron Letters*, 50, 5045 (1978).
11. Manske, R.H.F.: The Alkaloids XVII, p. 16, (1970).
12. Pelletier, S.W. and Keith, L.H.: Chemistry of Alkaloids p. 530 (1970).
13. Pelletier, S.W.: *Can. J. Chem.*, 57, 1652 (1979).
14. 韓國生藥學會編: 生藥要覽 p. 30 (1980).
15. 難波恒雄: 原色和漢藥圖鑑(上) p. 52, (1980).
16. 中山醫學院編: 漢藥의 臨床應用, 神戶中醫學研究會譯, p. 190, (1979).
17. 總合漢法研究會編: 附子の 研究, 文獻篇, p. 177.
18. Gonzalez, A.G. et al.: *Tetrahedron Letters*, 24, p. 59, (1983).
19. Yu, D.Q. and Daş, B.C.: *Planta medica*, 49, 85 (1983).