

마이크로파를 이용한 부자의 새로운 수처리방법

윤혜숙 · 유경숙 · 이숙연* · 이연희* · 광의중** · 김기협**
서울대학교 생약연구소 · *삼육대학 약학과 · **선경인더스트리 생명과학연구소

Microwave Irradiation, A New Processing Method of Aconiti Tuber

Hye Sook Yun-Choi, Kyung Sook Yoo, Sook Youn Lee*, Youn Hee Lee*
Wie-Jong Kwak** and Ki-Hyup Kim**

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460,

*Department of Pharmacy, Korean Sahn Yook University, Seoul 139-242¹ and

**Life Science Research Center, Sunkyong Industries, Suwon-Si 440-745, Korea

Abstract—Crude Aconiti Tubers were irradiated with microwave for 5 or 10 min with or without NaHCO₃. Ten min-irradiation reduced the contents of aconitine and mesaconitine to the level of those of commercially available processed Aconiti tuber powder which is prepared with the high pressure-high temperature technique. The contents of benzoylaconine of the 10 min-irradiated Aconiti tubers were also comparable to those of commercialized processed Aconiti tuber powder. However, irradiation with 1% NaHCO₃ soln. resulted in the drastic reduction of all the three above alkaloids.

Keywords—Aconiti Tuber·microwave irradiation · aconitine · mesaconitine · benzoylaconine

부자(附子, Oriental Aconiti, Aconiti Tuber)는 중국원산인 *Aconitum carmichaeli* Debeaux (Ranunculaceae, 미나리아재비과) 및 그 동속식물의 괴근으로서 예로부터 한방에서 강심, 이노, 신진대사촉진 및 기능항진, 진통제 등으로 널리 쓰여온 생약이다.¹⁻⁵⁾ *Aconitum*속 식물은 화학 성분으로서 강심작용을 갖는 higenamine 이외에 aconitine, mesaconitine, hyaconitine 등의 맹독성 알카로이드 성분 등 많은 종류의 알카로이드들을 함유하고 있으며 기원식물의 종류, 산지, 채취시기에 따라 그 함유성분에 질적, 양적으로 큰 차이를 보인다.^{6,7)} 또한 aconitine계 알카로이드들은 동물실험에서 LD₅₀가 피하주사 또는 복강내 주사의 경우 0.1~1.1 mg/kg, 경구투여의 경우 1~3 mg/kg으로서 강한 독성을 나타내

나^{8,9)} 검화 또는 가열가수분해 등에 의하여 deacetylation, debenzoylation, oxidation 등의 반응이 일어나 독성이 낮은 benzoylaconine계, aconine계, pyroaconine계 등으로 변화됨이 보고되고 있다.⁹⁻¹³⁾ 따라서 *Aconitum*속 식물의 근경을 자연건조하여 그대로 약용으로 사용하기 보다는 예로부터 장시간 염수에 침적하거나, 가열처리하는 등의 수치(修治) 과정을 거쳐 독성을 감소시킨 염부자(鹽附子) 또는 포부자(炮附子) 등이 사용되어 왔으며 현재도 한국에서는 이러한 수치 부자들을 중국으로부터 수입하여 그대로 사용하거나 또는 재차 수치하여 사용하고 있다.¹⁴⁾ 그러나 재래의 수치방법들은 그 과정이 확실히 정립되어 있지 않기 때문에 시행하는 방법에 따라 감독화의 정도에 많은 차이를

보이고 있다.

규격화된 수지부자의 제조방법으로서는 가압 증기에 의하여 부자괴근을 고압하에서 장시간 가열처리함으로써 aconitine계 알칼로이드들을 가수분해시켜 감독화시키는 방법과 고온고압처리 전에 부자를 Ca, Mg, Na, K 등의 수산화물 등 염기용액에 침적시킨후 고온, 고압처리를 함으로서 가수분해를 촉진시켜 처리시간을 단축시키는 방법이 Morikawa(森川)와 Tanaka(田中)에 의하여 개발되었으며¹⁵⁾ 현재 위의 방법으로 제조된 가공부자말(加工附子末)이 부자 함유 생약 제제의 생산에 많이 이용되고 있다.

근래에 무기물 또는 유기물에 함유된 미량 금속원소 분석을 위한 시료의 건조 및 회분화에 전자오븐(microwave oven)을 사용함으로써 종래의 hot plate 또는 일반오븐에서의 처리시간 3~8시간보다 매우 짧은 3~30분에서 시료의 digestion을 완료할 수 있음이 보고되어 널리 이용되고 있다.^{16~18)} 또한 최근 microwave irradiation에 의하여 가수분해, Diels-Alder, Claisen 반응 등 유기화학 반응의 반응속도와 수율을 현격하게 높일 수 있음이 보고되고 있다.^{19~21)} 따라서 본 연구에서는 종래 고온, 고압하에서 처리하는 방법에 비하여 고압반응의 위험성이 없고 간편한 방법으로서 부자괴근을 전자오븐에서 처리함으로써 짧은시간에 aconitine계 알칼로이드들을 가수분해시켜 부자를 저독화시킬수 있을 것인가를 검토하고자 하였다.

실 험

부자류재료

실험에 사용된 Aconiti Tuber로서는 1989년 7월 Huang 교수가 중국 Scichuan Province에서 *Aconitum Carmichaeli*의 자근(子根)을 채취하여 건조시킨 건조부자(乾燥附子)와 한국한약수출입 조합에 의하여 중국으로부터 1988년 수입된 천오(川烏)를 사용하였으며 각각을 조말상태로 분쇄하여 실험에 사용하였다. 가공부자(加工附子)는 일본의 Sangwa Pharmaceutical Co.(三和生藥) 제품을 구입하여 사용하였다.

기 기

시료는 광일공업제품인 가정용 분쇄기로 분쇄하였으며 금성사 Model ER 6100B 전자오븐을 이용하여 마이크로파 처리를 하였으며 HPLC 분석기기는 Waters Associates(U.S.A.)의 분석용 high pressure liquid chromatography system으로서 M 45 solvent delivery system, M 450 variable wavelength detector, M 730 data module 및 Flow-Max(영인과학) radial compression module 을 부착하여 사용하였으며 column은 Radial Pak CN(5 mm i.d.×10 cm)를 사용하였다.

시 약

Aconitine hydrochloride는 Sigma Chem. Co.

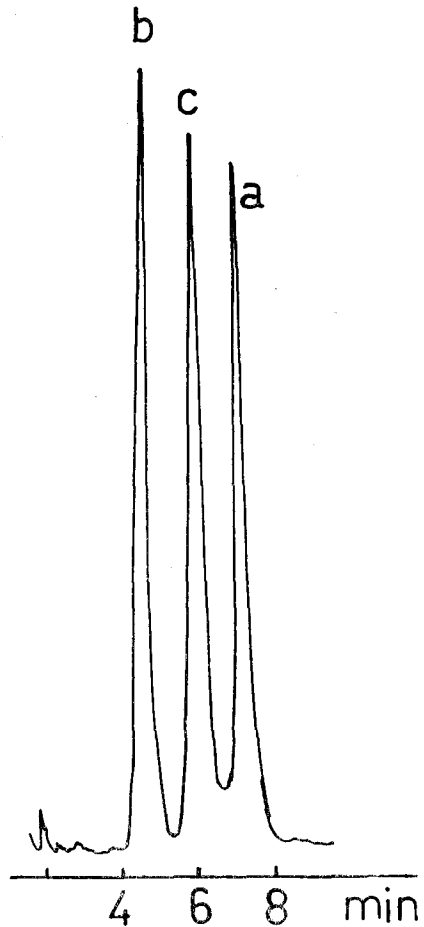


Fig. 1. HPLC Chromatogram of aconitine (a) benzoyleaconine (b) and mesaconitine (c). Column: Radial Pak CN (5 mm×10 mm); mobile phase: CH₃CN-0.01M dibutylamine phosphate (55 : 45); flow rate: 1.5 ml/min, detector: UV 254 nm.

(U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며 mesaconitine은 고 정보섭 교수와 이현선 박사에게서 기증받아 사용하였다. Benzoylaconine은 Hikino 등의 방법에 의하여 aconitine으로부터 합성하여 사용하였다.²²⁾

HPLC 조건

이동상으로서 CH₃CN과 0.01 M dibutylamine phosphate(pH 3.00)의 55 : 45 혼합용매를 사용하였으며 유속 1.5 ml/min으로서 elution시켰고 UV detector를 사용하여 254 nm(0.1 AUFS)에서 검출하였다.

표준검량선의 작성

Aconitine, benzoylaconine 및 mesaconitine 각 1.2 mg을 각각 MeOH 5 ml에 용해시키고 이들을 10~240 µg/ml(즉 0.5~12 µg/50 µl)가 되도록 단계적으로 MeOH로 희석한 후 각 50 µl를 HPLC에 주입하여 chromatogram을 얻었으며 각각의 peak 높이로부터 aconitine, benzoylaconine 및 mesaconitine 각각에 대하여 검량선을 작성하였다(Fig. 2).

부자류시료의 마이크로파처리

건조부자 또는 천오 분말 각 20 g을 증류수 50 ml, 120 ml 또는 1% NaHCO₃ 120 ml와 잘저어 15시간 방치하여 용액이 고르게 스며들게 하였다. 각각을 전자오븐에 넣고 용액 50 ml를 넣은

시료는 5분, 120 ml를 넣은 시료는 10분간 마이크로파 처리하였다. 각각의 처리시료는 실온에서 완전히 건조시키고 분쇄기로 조말상태로 갈았다.

시료의 추출전처리 및 분석조작

분말상태의 시료(건조부자, 천오, 마이크로파 처리 건조부자, 마이크로파 처리천오 및 가공부자말) 각 20 g을 MeOH 200 ml로 12시간씩 2회 추출한 후 EtOAc-MeOH(6 : 4) 200 ml로 18시간 1회, 3시간 1회 추출하여 각 추출액을 합하여 60° 이하 감압에서 용매를 증발시켜 에기스를 얻었다. 시료 2 g에 해당하는 추출에기스를 1 mM HCl(pH 3.0) 20 ml에 녹여 감압여과 한 후 여액 16 ml를 MeOH 10 ml, 10% MeOH 10 ml, H₂O 10 ml 및 1 mM HCl 10 ml의 순서대로 세척하여 활성화시킨 Sep-pak C₁₈ cartridge에 통과시켰다. Cartridge를 1 mM HCl 6 ml, 증류수 15 ml 및 10% MeOH 20 ml로 세척한 후 70% MeOH 30 ml와 85% MeOH 20 ml로 용출시켰다.

용출액을 합하여 감압 농축시킨후 잔사물 MeOH 500 µl에 녹여 이중 20~50 µl를 HPLC에 주입하여 chromatogram을 얻었다. 3회 반복 실험하여 각각의 peak 높이의 평균치를 얻었으며 이를 Fig. 2에 도입하여 분석된 알카로이드양을 구하였으며 다음에 의하여 각각의 알카로이드 함량(µg/g)을 계산하였다.

알카로이드함량(µg/g)

$$= a(\mu\text{g}) \times \frac{500(\mu\text{l})}{\text{HPLC주입량}(\mu\text{l})} \times \frac{20(\text{ml})}{16(\text{ml})} \times \frac{1(\text{g})}{2(\text{g})} \times b.$$

a. HPLC chromatogram에 의하여 분석된 알카로이드양.

b. aconitine: 100/59, mesaconitine: 100/53, benzoylaconine: 100/74(Sep-pak C₁₈ cartridge에 의한 처리후 aconitine, mesaconine 및 benzoylaconine의 평균회수율은 각각 59%, 53% 및 74%이었다. (Table I)

실험결과 및 고찰

무기물 분석시료의 조제과정에서 종래의 일반 오븐을 사용할 때 3~4시간을 필요로 하였던 시

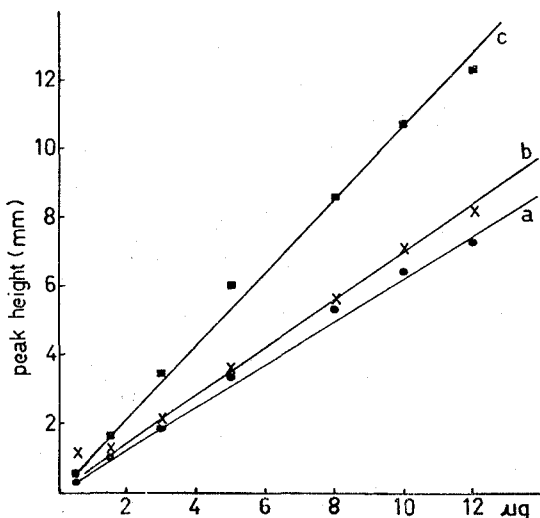


Fig. 2. Standard calibration graphs for aconitine (a) ●—●, benzoylaconine (b) x—x and mesaconitine (c) ■—■.

Table I. Sep-Pak C₁₈ 처리후의 aconitine, mesaconitine 및 benzoyleaconine의 회수율

Sep-pak 주입량(μg)		200	160	120	80	평균회수율(%)
Aconitine	회수량(μg)	128	98	78	35	
	회수율(%)	64	61	65	44	59
Mesaconitine	회수량(μg)	122	85	56	41	
	회수율(%)	61	53	47	51	53
Benzoyleaconine	회수량(μg)	143	130	86	55	
	회수율(%)	72	81	72	69	74

료의 건조 및 회분화 과정을 마이크로파를 이용함으로써 3~30분으로 대폭 단축시킬 수 있음이 보고된 이래, 마이크로파의 이용에 관한 연구가 다각적으로 진행되어왔다. 특히 생체시료에 함유된 금속원소 분석시 유기물을 분해하는 과정에서는 마이크로파를 이용함으로써 건조 및 회분화시간을 단축시킬뿐 아니라 종래의 방법에서 예상되었던 폭발의 위험성등을 줄일수 있음이 보고되고 있다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 또한 마이크로파에 의하여 여러가지 유기화학반응이 신속히 일어날 가능성이 제시되었으며 특히 가수분해 반응 등의 반응시간을 크게 단축시킴이 보고되고 있다.¹⁹⁻²¹⁾ 부자류는 수처리과정에서, 함유된 독성이 강한 aconitine계 알카로이드들이 deacetylation, debenzoylation 등의 가수분해반응 및 oxidation 등의 반응을 거쳐 benzoyleaconine계, aconine계, pyroaconine계 등 독성이 적은 알카로이드들로 변화되는 것으로 보고되고 있어 부자를 마이크로파 처리함으로써 위와 같은 일련의 반응들이 촉진되어 짧은 시간에 종래의 고온고압처리와 유사한 효과를 얻을 수 있을 것인가를 검토하였다.

부자류시료는 조분말로 하였으며 마이크로파 처리후 잔여수분이 거의 남지 않을 양의 증류수를 가하여 고르게 흡수시킨후 전자오븐에서 일정시간 처리하였으며 마이크로파 처리 전후의 시료에 있어서의 aconitine, mesaconitine 및 benzoyleaconine의 함량을 분석하였다. 각각의 시료는 MeOH 및 MeOH-EtOAc(4:6) 혼합용매로 추출하였으며, 추출에기스는 Sep-pak C₁₈ cartridge를 사용하여 전처리과정을 거친후 HPLC에 주입하여 분석하였다. 실험부에서 기술한 조건에서 표준의 aconitine, mesaconitine, 및 ben-

zoyleaconine에 의하여 Fig. 1과 같은 chromatogram을 얻었으며 각 알카로이드 0.5~12 μg 을 HPLC에 주입하여 얻은 chromatogram으로부터 Fig. 2와 같은 표준 검량도표를 작성하였다. 또한 aconitine, mesaconitine, benzoyleaconine 각 일정량을 1 mM HCl에 녹여 시료에기스의 HPLC 분석 전처리 조작과 동일하게 Sep-pak C₁₈ cartridge에 흡착, 세척 및 용출시켜 HPLC로 분석하여 Sep-pak C₁₈ 처리후 회수율을 측정하였다. Table I에서 보는 바와 같이 aconitine, mesaconitine 및 benzoyleaconine의 Sep-pak C₁₈ 처리후의 평균 회수율이 각각 59%, 53% 및 74%로서 우수하지 못하였으나 간단한 조작으로서 알카로이드 이외의 많은 물질들을 시료에기스로부터 제거할 수 있음을 TLC 비교로서 확인할 수 있었다.

마이크로파 처리에 따른 알카로이드의 함량변화

예비실험결과 2~4분간 마이크로파 처리후 aconitine의 함량이 감소함을 TLC로서 확인할 수 있었으나 가공부자의 aconitine 함량보다는 현저히 높음을 감지하였기에 건조부자 및 천오를 각각 증류수에 침적후 5분 및 10분간 전자오븐에서 처리하였다. 또한 부자류의 aconitine계 알카로이드의 함량이 염기로 처리후 고온고압처리할때 현저히 저하됨이 보고되었기에¹⁶⁾ 건조부자 및 천오 각각을 1% NaHCO₃에 침적시킨후 10분간 마이크로파 처리하였으며 가공부자, 건조부자, 천오 및 각각의 마이크로파 처리 시료들을 추출하여 HPLC로 분석한 결과를 Table II에 정리하였다.

건조부자 및 천오는 각각 98.6 $\mu\text{g/g}$ 및 220.5

Table II. 각종 부자류시료중의 aconitine, mesaconitine 및 benzoylaconine의 함량 비교

	Aconitine ($\mu\text{g/g}$)	Mesaconitine ($\mu\text{g/g}$)	Benzoyl- aconine ($\mu\text{g/g}$)
가공부자	38.2	53.1	80.8
건조부자	98.6	162.8	60.3
건조부자 -5 MT*	60.4	96.8	78.2
건조부자 -10 MT*	39.2	73.2	82.5
건조부자 -10 MT* -NaHCO ₃	10.6	9.4	18.7
천 오	220.5	245.4	63.8
천 오 -5 MT*	120.0	151.0	146.2
천 오 -10 MT*	44.5	83.8	87.6
천 오 -10 MT* -NaHCO ₃	15.9	26.0	21.2

* 5 MT : 5분간 마이크로파처리
10 MT : 10분간 마이크로파처리
10 MT-NaHCO₃ : 1% NaHCO₃에 침적후 10분간 마이크로파처리

$\mu\text{g/g}$ 의 aconitine과 162.9 $\mu\text{g/g}$ 및 245.4 $\mu\text{g/g}$ 의 mesaconitine을 함유하여 고온고압처리 제품인 가공부자(38.2 $\mu\text{g/g}$ 의 aconitine 및 53.1 $\mu\text{g/g}$ 의 mesaconitine 함유)보다 상당히 많은 양의 aconitine계 알카로이드들을 함유하였다. 건조부자를 전자오븐에서 5분 또는 10분간 처리하였을 때 aconitine은 각각 60.4 $\mu\text{g/g}$ 및 39.2 $\mu\text{g/g}$, mesaconitine은 각각 96.8 $\mu\text{g/g}$ 및 73.2 $\mu\text{g/g}$ 으로서 5분간 처리하였을 때에도 함량이 처리전보다는 저하되었으나 10분간 처리하였을 때 가공부자의 함량수준으로 저하됨이 관찰되었으며 천 오 또한 전자오븐에서 5분 또는 10분간 처리하였을 때 aconitine은 각각 120.0 $\mu\text{g/g}$ 및 44.5 $\mu\text{g/g}$, mesaconitine은 각각 151.0 $\mu\text{g/g}$ 및 83.8 $\mu\text{g/g}$ 으로서 5분간 처리하였을 때 aconitine계 알카로이드의 함량이 상당히 저하되었으며 10분간 처리하였을 때 가공부자의 함량수준으로 저하됨을 관찰하였다.

Benzoylaconine의 함량은 마이크로파 처리에 의하여 증가하여 10분간 처리하였을 때 가공부자의 함량수준에 도달하였다. 천오는 5분간 마이

크로파 처리하였을 때 benzoylaconine의 함량이 146.2 $\mu\text{g/g}$ 으로서 10분간 처리하였을 때의 87.6 $\mu\text{g/g}$ 보다 훨씬 높았다. 이는 aconitine이 deacetylation되어 생성된 benzoylaconine이 다시 debenzoylation, oxidation 등의 반응을 거쳐 aconine 또는 pyroaconine 등으로 변화되며, 후기 5분간 새로 생성되는 benzoylaconine보다 많은 양의 benzoylaconine이 분해되는 결과로 사료된다. 건조부자 또는 천오를 1% NaHCO₃ 용액에 침적시킨후 마이크로파 처리하였을 때에는 분석된 3종의 알카로이드 모두의 함량이 가공부자의 각 알카로이드 함량의 1/2~1/5 이하로서 알카로이드의 함량이 지나치게 낮아졌다.

결 론

부자류 생약의 새로운 수처리방법으로서 전자오븐에서 마이크로파로 처리하는 방법을 검토하였다. 건조부자 또는 천오를 증류수에 침적시킨후 10분간 마이크로파 처리하였을 때 aconitine 및 mesaconitine의 함량이 고온고압처리 제품인 가공부자의 함량 수준으로 낮아졌으며 benzoylaconine의 함량 또한 가공부자의 함량 수준인 것으로 관찰되었다. 그러나 1% NaHCO₃ 용액에 침적시킨후 마이크로파 처리하였을 때는 분석한 3종의 알카로이드 함량이 모두 지나치게 낮아졌다. 위의 결과로서 부자류의 괴근을 증류수에 침적시킨후 전자오븐에서 마이크로파로 처리하는 방법이 부자의 수처리방법으로서 적합한 것으로 사료되며 종래의 고온고압을 이용한 가공부자의 제조방법을 대용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 말씀—본 연구를 진행함에 있어 건조부자의 채집에 협조하여 주신 Huang 및 Zhang 교수, mesaconitine의 표품을 제공하여 주신 고정보섭 교수와 이현선 박사께 감사드립니다.

(1990년 12월 1일 접수 : 12월 15일 수리)

문 헌

1. 대한보건의공정서 협회 : 대한약전 제 5 개정 p. 849 (1987).

2. 이선주, 이용주 : 생약학 p.110, 등명사 (1961).
3. Higashi, J. and Nagoshi, K.: Pharmacognosy (新編生藥學), Hirokawa Publishing Co., (1973).
4. Benn, M.N., and Jacyno, J.M.: Alkaloids, Chemical and Biological Perspectives Vol. 1, p.153 (1983).
5. Takaki, K., Kimura, M., Halada, M. and Ostuka, Y.: Oriental Pharmacology(和漢藥物學), p. 81 Nansando Publishing Co. (1982).
6. Hikino, H., Murakami, M., Konno, C. and Watanabe, H.: *Planta Medica* **48**, 67 (1983).
7. Kitagawa, I., Chen, Z.L., Yoshihara, M. and Yoshikawa, M.: *Yakugaku Zasshi* **104**, 867 (1984).
8. Hikino, H., Takahashi, M., Konno, C., Hashimoto, I. and Namiki, T.: *Shoyakugaku Zasshi* **37**, 1 (1983).
9. Hikino, H., Yamada, C., Nakamura, K., Sato, H., Ohizumi, Y. and Endo, K.: *Yakugaku Zasshi* **97**, 359 (1977).
10. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Chen, Z.L. and Kobayashi, K.: *Chem. Pharm. Bull.* **30**, 758 (1982).
11. Kitagawa, I., Chen, Z.L., Yoshihara, M. and Yoshikawa, M.: *Yakugaku Zasshi* **104**, 848 (1984).
12. Kitagawa, I., Chen, Z.L., Yoshihara, M., Kobayashi, K., Yoshikawa, M., Ono, N. and Yoshimura, Y.: *Yakugaku Zasshi* **104**, 858 (1984).
13. Goto, T.: *Japanese J. Pharmacol.* **52**, 496 (1956).
14. Park, H.S., Kim, S.-H., Kim, P.-Y. and Chang, I.-M.: *Korean J. Toxicol.* **6**, 41 (1990).
15. Morikawa, Y. and Tanaka, K.: Japanese Patent 43-24041 (1968).
16. Hessek, J.A. and Wilson, R.C.: *Anal. Chem.* **46**, 1160 (1974).
17. Abu-Samra, A., Morris, J.S. and Koirtyohann S.R.: *Anal. Chem.* **47**, 1475 (1975).
18. Barrett, P., Davidowski, L.J., Penaro, K.W. and Copeland, T.R.: *Anal. Chem.* **50**, 1021 (1978).
19. Otteson, D. and Michel, J.: *J. Org. Chem.* **49**, 866 (1984).
20. Giguere, R.J., Bray, T.L. and Duncan, S.M.: *Tet, Lett.* 4945 (1986).
21. Sun, W.-C., Guy, P.M., Jahngen, J.H., Rosso-mando, E.F. and Jahngen, E.G.E.: *J. Org. Chem.* **53**, 4414 (1988).
22. Hikino, H. and Konno, C.: *J. Chromatogr.* **211**, 123 (1981).