

## 조구등 중의 알칼로이드 분석

박만기<sup>†</sup> · 박정일 · 김종문 · 한상범 · 한방희 · 강종성\*

서울대학교 약학대학

\*충남대학교 약학대학

(1993. 12. 2. 접수)

## Analysis of Alkaloids in *Uncaria* Hooks

Man Ki Park<sup>†</sup>, Jeong Hill Park, Jong Moon Kim, Sang Bum Han, Bang Hee Han, Jong Seong Kang\*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

\*College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764

(Received Dec. 2, 1993)

**요약** : 혈압 강하제로 쓰이는 생약인 조구등(*Uncaria hooks*)으로부터 네 가지 알칼로이드(corynoxine, rhynchophylline, isocorynoxine, isorhynchophylline)들을 분리하고 이들을 HPLC를 이용하여 정량하였다. 그 결과 조구등내 함량은 isocorynoxine 0.21%, isorhynchophylline 0.16%, corynoxine 0.28%, rhynchophylline 0.23%인 것으로 나타났다. 또한 corynoxine과 isocorynoxine, rhynchophylline과 isorhynchophylline은 열처리에 의하여 상호 변환하였으며 물로 열처리하여 추출하였을 때 corynoxine과 rhynchophylline의 상대적인 양이 증가하였다.

**Abstract** : Corynoxine, rhynchophylline, isocorynoxine, isorhynchophylline were isolated from *Uncaria hooks* and determined by HPLC. Their contents were : isocorynoxine 0.21%, isorhynchophylline 0.16%, corynoxine 0.28%, rhynchophylline 0.23%, respectively. Corynoxine and isocorynoxine, rhynchophylline and isorhynchophylline were interconverted each other by heat treatment.

**Key word** : *Uncaria hooks*, Rubiaceae, rhynchophylline, corynoxine, isocorynoxine, isorhynchophylline, analysis of alkaloid.

### 1. 서론

조구등(*Uncaria hooks*)은 한방에서 고혈압 치료제로 많이 사용되는 생약 중의 하나로<sup>1</sup>, 이제까지 많은 연구자들이 그 성분 및 약효에 관해 보고한 바<sup>3-10</sup>, 그 주요 성분은 tetracyclic 또는 pentacyclic heteroyohimbine계 또는 oxyindole계의 알칼로이드라고 보고되었다.<sup>3</sup> Katsuya 등은 tetracyclic oxyindole계 알칼로이

드인 corynoxine, rhynchophylline, isocorynoxine, isorhynchophylline이  $Ca^{2+}$ -antagonistic (contraction-inhibiting) activity를 갖는다고 보고하였다.<sup>7</sup> 한방에서 조구등은 다른 생약을 모두 달인 후에 15분 이내에 다시 달인 후 사용한다. 이때 15분 이상 달이면 조구등의 약효가 없어진다고 알려져 있다.<sup>2</sup> 이것은 15분 이상 달일 경우 불안정한 약효 성분이 변하여 약효가 없어지거나 또는 약효를 방해하는 성분이 달이는 과정

중 활성화되어 약효가 없어지는 경우라고 생각되어진다. 이 현상에 대한 분자 수준의 연구의 일환으로 조구 등 중에서 약효를 낸다고 알려진 알칼로이드들 중 *corynoxeine*, *rhynchophylline*, *isocorynoxine*, *isorhynchophylline*을 분리하여 이 알칼로이드들이 열처리를 통하여 어떻게 변하는가를 관찰하였다.

## 2. 실험

### 2. 1. 시약

실험에 사용한 조구등(*Uncaria hooks*)은 경동 시장에서 구입하여 분말로 하였다. 모든 용매는 1급(EP) 시약을 사용하였다. 컬럼용 실리카겔은 Kieselgel 60 (70-230) mesh ASTM, Merck Art. 7734 또는 7729)을 사용하였다. 박층크로마토그래피는 Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (layer thickness 0.25mm, 20×20, Merck Art. 5715)를 사용하였고, 발색은 UV 254nm 및 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액, Dragendorff 시약을 사용하였다. CDCl<sub>3</sub>와 C<sub>5</sub>D<sub>3</sub>N은 Merck사 제품을 사용하였다.

### 2. 2. 기기

HPLC는 SLC-100 펌프(삼성, 한국), 자외선 검출기(Hitachi, L-4200, 일본)를 사용하였고 컬럼은 Lichrospher 60 RP-select B (5μm, 125×4, Merck, 독일), Lichrospher 60 RP-18 (7μm, 250×10, Merck, 독일)을 사용하였다. GC는 Hewlett-Packard 5890(미국), 컬럼은 Ultra-1 (0.32mm×25m, Hewlett Packard, 미국)을 사용하였고, UV는 Shimadzu UV-2100 Spectrometer(일본)를, IR은 Perkin-Elmer 1710 Spectrometer(영국)를, NMR은 Bruker FT-80A Spectrometer (80MHz, 독일), JEOL JNM-GSX 400 Spectrometer (400MHz, 일본)를, 질량분석기는 VG TRIO-II GC/MS system(영국)을 사용하였다. 원소분석기는 Perkin-Elmer 240C(영국)을 선풍도계는 Jasco DIP-360(일본)을 사용하였다.

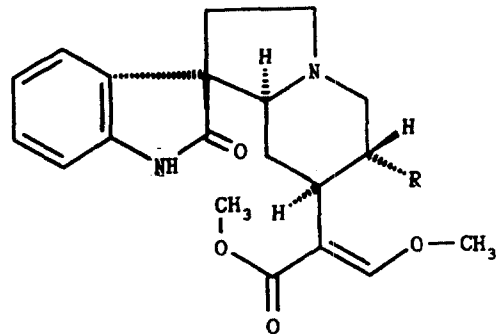
### 2. 3. 추출 및 분획

경동 시장에서 구입한 조구등 4.5kg을 분말로 한 후 메탄올로 24시간 냉침하여 여과하는 조작을 3회 실시하여 얻은 메탄올 냉침액을 감압 농축하였다. 농축한 메탄올 추출물을 물에 현탁시킨 후 분액깔때기에서 동

량의 에테르로 추출하여 에테르층을 얻은 후 이 에테르분획을 대상으로 실리카겔 컬럼을 하였다. 용매는 CHCl<sub>3</sub>-MeOH 50:1부터 시작하여 20:1, 10:1, 5:1, 2:1 등으로 순차적으로 용매 강도를 증가시켜 용출시키고 TLC 검색에 의해 6개의 분획으로 나누었다.

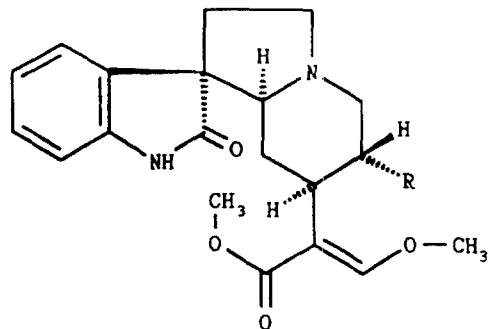
### 2. 4. 알칼로이드들의 분리

2. 3의 분획 중 알칼로이드가 많이 함유되어 있는 3번 분획을 대상으로 preparative HPLC를 실시하여 4개의 분획으로 나누었다. 이때 컬럼은 Lichrosorb RP-18



R = -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>  
rhynchophylline

R = -CH=CH<sub>2</sub>  
corynoxine



R = -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>  
isorhynchophylline

R = -CH=CH<sub>2</sub>  
isocorynoxine

(10×250mm, 7μm), 이동상은 0.05M phosphate buffer (pH 3.5) : CH<sub>3</sub>CN = 75:25의 혼액을 사용하였다. 이 분획들을 각각 30℃ 이하에서 감압 농축하여 CH<sub>3</sub>CN을 날려 보내고 c-NH<sub>4</sub>OH로 중화시킨 후 CHCl<sub>3</sub>로 3회 추출하여 얻은 CHCl<sub>3</sub>층을 대상으로 실리카겔 컬럼을 하여 isocorynoxine 2.6mg, isorhynchophylline 2.1mg, corynoxine 2.9mg, rhynchophylline 1.9mg을 분리하였다.

**isocorynoxine** : Mass (EI., 70eV), m/z (Rel. Int%) : 382(M<sup>+</sup>, 100), 351(13), 237(15), 206(22), 144(35), 108(30) ; NMR (80MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 4.95(2H, =CH<sub>2</sub>), δ 5.5(1H, -CH=)

**isorhynchophylline** : Mass (EI., 70eV), m/z (Rel. Int%) : 384(M<sup>+</sup>, 100%), 353(8%), 239(80%), 144(21%), 208(33%) ; NMR (80MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 3.73(3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 3.62(3H, s, OCH<sub>3</sub>)

**corynoxine** : Mass (EI., 70eV), m/z (Rel. Int%) : 382(M<sup>+</sup>, 100), 351(18), 237(15), 236(20), 222(23), 144(30) ; NMR (80MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 4.8(2H, =CH<sub>2</sub>), 5.6(1H, -CH=)

**rhynchophylline** : Mass (EI., 70eV), m/z (Rel. Int%) : 384(M<sup>+</sup>, 100), 353(5), 239(80), 224(29), 208(27), 144(30) ; NMR (80MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 3.71(3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 3.60(3H, s, OCH<sub>3</sub>)

**2. 5. 알칼로이드의 정량**

2. 4에서 분리한 알칼로이드들을 MeOH에 녹여 최종 용적을 20ml로 맞춘 후 0.45μm 멤브레인 필터를 통과시킨 액을 알칼로이드 표준액으로 하였다. 따로 조구등 분말 10g에 50ml의 MeOH를 넣고 20℃에서 20분간 초음파 추출한 후 여과하는 조작을 3회 실시하고 MeOH로 최종 용적을 200ml로 한 후 0.45μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 HPLC용 검액으로 하였다.

검액 중의 알칼로이드 함량을 HPLC를 이용하여 정량하였다. 이때 컬럼은 Lichrospher 60 RP-select B (5μm, 125×4)을 사용하였고 이동상은 0.05M phosphate buffer (pH 3.5) : CH<sub>3</sub>CN을 90 : 10에서 20 : 80으로 기울기 용리시켰고 검출은 UV 254nm를 사용하였다. 크로마토그램은 Fig. 1과 같다.

**2. 6. 열처리시간에 따른 성분 변화**

2. 5에서 제조한 표준액을 각각 1ml씩 취하여 여기

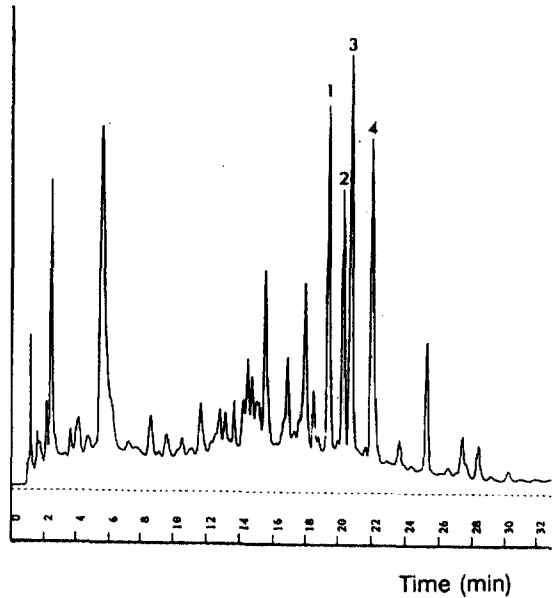


Fig. 1 Chromatogram of MeOH extract of *Uncaria hooks*

- 1 : isocorynoxine 2 : isorhynchophylline
- 3 : corynoxine 4 : rhynchophylline

에 물 1ml를 더 첨가하고 밀봉한 후 95℃ 수욕상에서 2분, 5분, 10분, 15분, 30분, 1시간, 2시간 열처리하였다. 열처리 후 5℃ 물에서 냉각한 후, 0.45μm 멤브레인 필터로 여과하여 HPLC를 실시하였다. 따로 조구등 분말 2.5g에 물 20ml를 가한 후 표준액의 열처리에서와 같은 시간 간격, 온도로 수욕상에서 열처리한 후 여과하고 물 20ml로 잔사를 여과한 후 최종 용적을 50ml로 하고 0.45μm 멤브레인 필터로 여과하여 HPLC를 실시하였다. 같은 방법으로 조구등 분말 2.5g을 물 대신 MeOH를 용매로 하여 열처리하여 HPLC를 실시하였다.

**3. 결과 및 고찰**

**3. 1. 알칼로이드의 정량**

HPLC에서 고정상으로 RP-C<sub>18</sub>과 select-B 컬럼을 사용하여 비교해 본 결과 select-B 컬럼이 더 적합하였다. Fig. 1의 크로마토그램에서 보는 바와 같이 isocorynoxine은 19.5분 isorhynchophylline은 20.5분, cor-

ynoxeine은 21분, rhynchophylline은 22.3분 근처에서 피크가 나타났다. 정량 결과 조구등 중의 4가지 알칼로이드의 함량은 isocorynoxine 0.21%, isorhynchophylline 0.16%, corynoxine 0.28%, rhynchophylline 0.23%인 것으로 나타났다.

3. 2. 알칼로이드의 열처리

조구등을 오래 달이면 약효가 감소한다는 기록에 착안하여 조구등의 약효 성분으로 알려진 isocorynoxine, corynoxine, isorhynchophylline, rhynchophylline 이 열처리를 통하여 어떻게 변하는가를 관찰하였다. Corynoxine을 수욕상에서 열처리하였을 때 isocorynoxine이 생성되고 isocorynoxine을 열처리했을 때는 corynoxine이 생성됨을 확인하였다. 마찬가지로 rhynchophylline은 isorhynchophylline을, isorhynchophylline은 rhynchophylline을 생성함을 확인하였고 이 상호 변환은 isocorynoxine과 corynoxine에 대한 isocorynoxine의 비율과 isorhynchophylline과 rhynchophylline에 대한 isorhynchophylline의 비율이 약 70%를 이루는 조성비로 평형점을 이루었다. 2, 5, 10, 15, 30, 60, 120분의 시간 간격으로 열처리하였을 때 알칼로이드 표준품의 조성의 변화는 Fig. 2와 같

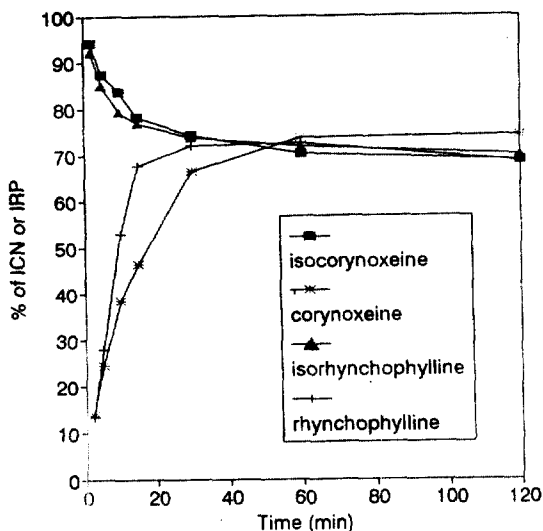


Fig. 2. Heat treatment of alkaloids  
solvent : MeOH/ water = 1:1  
temperature : 95°C

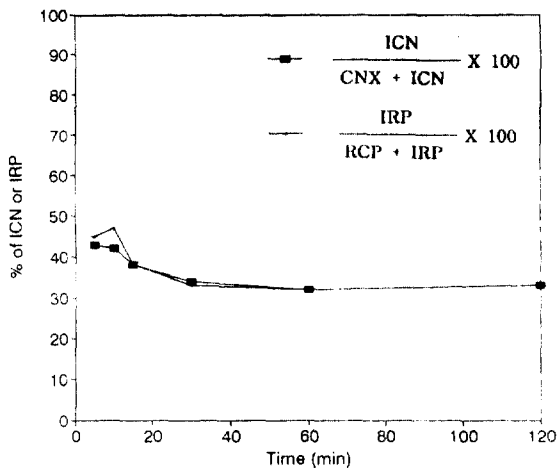


Fig. 3. Effect of extraction time on the alkaloids extracted 2.5g of *Uncaria hooks* was decocted with water at 95°C

CNX : corynoxine, INC : isocorynoxine  
RCP : rhynchophylline, IRP : isorhynchophylline

다. 그러나 실제 조구등에 있어서는 MeOH를 용매로 하여 열처리하였을 때에는 앞서와 같은 결과를 얻었으나, 물을 용매로 하여 열처리하였을 때에는 앞서와 달리 오히려 corynoxine과 rhynchophylline의 상대적 인 양이 늘어났으며 corynoxine과 rhynchophylline의 비율이 약 66%를 이루는 조성비로 평형점을 이루었다. 결과는 Fig. 3과 같다.

4. 참고문헌

1. 상해과학기술출판사편, *중약 대사전*, 소학관, 1985.
2. 이상인, *본초학, 의약사*, 1975.
3. J. D. Phillipson, S. R. Hemingway, *Lloydia*, **41**(6), 503(1978).
4. J. HagiNiwa, S. Sakai, N. Aimi, E. Yamanaka, N. Shinma, *Yakugaku Zasshi*, **93**, 448(1973).
5. T. Nozoye, Y. Shibanuma, A. Shigehisa, *Yakugaku Zasshi*, **95**(6), 758(1975).
6. K. Endo, Y. Oshima, H. Kikuchi, Y. Koshihara, H. Hikino, *J. Med. Plant Research*, **49**, 188(1983).
7. Y. Joji, M. Shuji, M. Hisashi, K. goro, *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **90**(3), 133(1987).

8. J. D. Phillipson, N. Supavita, *Phytochemistry*, **22**(8), 1809(1983).  
880(1985).
9. S. H. Goh, S. A. A. Juhan, *Phytochemistry*, **24**(4),  
10. D. Ponglux, T. Supavita, R. Verpoorte, J. D. Phyllipson, *Phytochemistry*, **19**, 2013(1980).