

빈랑자(Arecae Semen)로부터 arecoline의 분리 및 함량분석

이승호* · 김소영 · 손건호¹ · 강신정² · 장승엽² · 박정일³ · 이경순⁴

영남대학교 약학대학, ¹안동대학교 식품영양학과, ²식품의약품안전청,

³서울대학교 약학대학 ⁴충북대학교 약학대학

Isolation and Quantitative Determination of Arecoline from Arecae Semen

Seung Ho Lee*, So Young Kim, Kun Ho Son¹, Shin Jung Kang²,
Seung Yeup Chang², Jeong Hill Park³ and Kyong Soon Lee⁴

College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749,

¹Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749,

²Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704,

³College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742,

⁴College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract – The seeds of *Areca catechu* L. has been used for the treatment of the diseases caused by parasites in East Asia. As a part of a research for standardization of crude drugs, we have determined the content of arecoline in the seeds of *Arecae Semen* purchased from various regions of Korea. The HPLC method for quantitative analysis of arecoline in *Arecae Semen* was established and reproducible results and chromatographic isolation of arecoline was accomplished successively. It suggested that the content of arecoline in *Arecae Semen* was $0.2726 \pm 0.05532\%$.

Key words – *Arecae Semen*, quantitative analysis, arecoline, standardization.

빈랑자는 빈랑나무 *Areca catechu* LINNE(Palmae, 야자나무과)의 과실에서 과피를 벗긴 씨이다. 빈랑자는 말레이 반도, 중국에서 오래 전부터 사용해오고 있고, 동남아시아, 중국남부, 인도, 대만, 필리핀, 동아프리카에서 생산된다. 둥한 원추형 또는 편평한 구형이며 길이 3~4 cm, 지름 2~3 cm의 크기를 갖고 바깥쪽은 적갈·회갈색이며 색이 옅은 그물무늬가 있고 밑부분에는 제점이 있다. 절단면은 질이 치밀하고 회갈색의 종피가 흰색의 배유 속에 침입하여 대리석 무늬를 나타낸다.¹⁾ 성분으로는 pyridine계 alkaloid로 arecoline, arecaidine, guvacine 등을 0.3~0.7% 함유하며, steroid로 diosgenin, kryptogenin, sitosterol 등을 함

유하고, tannin으로 (+)-catechin, epicatechin, arecattannin 등을 함유한다.²⁾ 보통 조충구제약으로 쓰이지만 복통등 부작용이 강하므로 가축용으로만 쓴다. Arecoline-HCl의 제조, 녹내장 치료, 기호료, 구강 청량제, 이질, 피부병 등에 사용한다.^{3,4)}

지금까지 빈랑자의 성분 및 용도에 관한 연구가 수행되었으나 빈랑자의 품질을 평가할 수 있는 지표물질의 선정이나 이를 이용한 성분함량에 대한 연구는 없었다. 따라서 우리 나라에서 사용되어 오고 있는 생약이면서 거의 대부분을 수입에 의존하고 있고, 산지에 따른 성분함량의 변화가 클 것으로 예상되는 현실에서, 빈랑자의 분석법을 확립하고 품질관리 기준을 설정하기 위해 지표물질을 선정함과 동시에 적절한 정량법이 절실히 요구되고 있다.

*교신저자 : Fax : 053-811-3871

저자 등은 생약의 품질규격화 연구의 일환으로⁵⁾ 빈랑자의 고유성분이면서 함량이 비교적 많고 HPLC로 정량이 가능한 arecoline을 지표성분으로 한 빈랑자의 성분 분석법을 개발하고 실제로 국내의 각지에서 시판되고 있는 빈랑자의 arecoline 함량을 분석하여 빈랑자의 품질관리 기준을 설정하였다.

재료 및 방법

검체 - 전국을 서울, 경기, 충청, 전북, 전남, 경북, 경남, 강원지역으로 구분하여 인구비례에 따라 20곳으로부터 빈랑자를 현지에서 무작위로 구입하고, 이를 분말로 하여 약전체 20호를 통과한 것을 시료로 하였다.

시약 및 기기 - HPLC는 Shimadzu LC-10A를 사용하였다. NMR spectrum은 Bruker사의 Avance 250 (250 MHz)를 사용하여 측정하였고, 내부표준물질은 TMS로, chemical shift는 ppm 단위로 표시하였다. UV spectrum은 Hewlett Packard 8453을 이용하여 측정하였고, IR spectrum은 JASCO사의 FT-IR 300E를 이용하여 측정하였다. 회분시험법 및 산불용성 회분시험법에 사용된 회화로는 Gallenkamp의 FR-614G를 사용하였다.

확인시험 - 빈랑자 분말 500 mg에 ether 5 ml 및 NaOH 시액 1 ml를 가한 뒤 가끔 저어주면서 5분간 냉침 후 여과한다. 여액에 1% HCl 3적을 가하고 수욕상에서 ether를 제거한 수용액을 여지상에 점적하고, 여지를 건조한 후 분무용 Dragendorff 시액을 분무했을 때 황색으로 발색한다.

몸은 EtOH 엑스 정량 - 시료 약 2.3 g을 정밀하게 달아 100 ml 플라스크에 넣고 몸은 에탄올 70 ml를 넣어 흔들어 주면서 5시간 추출하고 다시 20시간 방치한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml로 될 때까지 몸은 에탄올로 씻는다. 여액 50 ml를 수욕상에서 증발 건조하고 105°C에서 4시간 건조하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 무게를 정밀하게 달고 2를 곱하여 몸은 에탄올엑스의 양으로 하였다. 검체량에 대한 엑스 함량(%)을 산출하였다.

회분함량 실험 - 미리 백금제 도가니를 500°C에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달다. 분석용 검체 약 3 g을 정밀하게 달아 백금 도가니 속에 넣고 천천히 온도를 높여 500°C에서 4시간 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하여 방냉한

다음 그 무게를 정밀하게 달다. 다시 잔류물이 항량이 될 때까지 회화하여 방냉한 다음 그 무게를 달아 회분량(%)으로 하였다.

HPLC용 표준액조제 - Arecoline 5 mg을 HPLC용 MeOH에 녹이고 이것을 stock solution으로 하여 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 300 µg/ml, 500 µg/ml의 검액을 만들어 검량선용 표준용액으로 하였다. 각 표준용액 10 µl를 취하여 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram으로부터 면적을 구하여, 이들 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하여 얻은 회귀직선 방정식은 $y=70873501.86x+307724.8692$ ($r=0.98$)이었다.

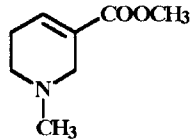
검액의 조제 - 검체 200 mg을 정확히 칭량하여 methanol 5 ml를 가해 60°C에서 3시간 추출한 후 여과하여 얻은 여액을 감압 농축하여 methanol 추출물을 얻었다. 이를 HPLC용 methanol에 용해시켜 0.45 µm membrane filter로 여과하여 여액을 5 ml로 조정, 검액으로 사용하였다.

HPLC의 분석조건 - Column은 Shim-pak CLC-ODS(M)을 사용하였으며, detector는 UV-226 nm를 사용하였다. Mobile phase는 0.01 M Na_2HPO_4 : acetonitrile=1:1(pH 8.33)를 사용하였고, flow rate는 0.3 ml/min 이었다.

Arecoline의 함량 - 미리 조제된 검액을 10 µl씩 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram에서 면적을 구하여 회귀방정식으로부터 각각의 arecoline 함량을 구했다.

Arecoline의 분리 - 전국 각지에서 구입한 빈랑자 6 kg을 MeOH로 1주일간 실온에서 추출하였다. 추출액은 한데 모아 감압하에서 MeOH를 증발 농축하였다. 농축액을 물에 현탁시킨 후, 동량의 methylene chloride로 색깔이 이행되지 않을 때까지 분획하였다. Methylene chloride 분획을 silicagel에 흡착시킨 후 methylene chloride-ethyl acetate를 이동상으로 하여 silicagel column chromatography를 실시하였다. 각각의 fraction을 표품과 함께 TLC로 확인하여 arecoline이 함유된 fraction을 다시 methylene chloride-acetone을 이동상으로 하여 silicagel column chromatography를 실시하였다. 얻어진 fraction 중에서 표품과 함께 TLC를 실시하여 arecoline 함유 분획을 얻고 이를 MeOH로 3회 재결정하여 arecoline을 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CD_3OD) δ 7.18 (1H, m, H-4), 4.00 (2H, m, H-2), 3.87 (3H, s, COOCH_3), 3.30

(2H, m, H-6), 3.01 (3H, s, N-CH₃), 2.72 (2H, m, H-5). ¹³C-NMR (62.5 MHz, CD₃OD) δ165.5 (COO), 138.0 (C-3), 125.2 (C-4), 51.8, 51.8, 52.7 (C-2,6), 50.6 (OCH₃), 43.2 (C-5), 24.1 (N-CH₃)



Arecoline

결과 및 고찰

Arecoline을 지표물질로 한 빈랑자의 표준화를 위하여 국내의 각 지방에서 수집한 빈랑자 20종에 대하여 arecoline의 함량 분석과 병행하여 약전의 일반시험법에 규정하는 방법에 따라 각종 이화학적 검사를 실시하였다. 수집된 20종의 시료는 외관상 일치하였으며 시료별 차이는 없었고, 알칼로이드를 지표로 하여 Dragendorff 시액을 사용하여 확인시험을 하였다. 시험에 사용된 모든 시료에서 Dragendorff 시액에 의한

양성반응을 나타내었으며, arecoline의 R_f치는 0.5 (silicagel, 10% MeOH in CH₂Cl₂)였다. 묽은 EtOH 엑스함량을 정량한 결과 함량은 20.95±0.8861%이었다. 회분함량은 5.07±0.130%이었으며, 이는 약전에 규정하고 있는 total 회분함량 2.5% 이하와는 크게 차이가 있었다.

수집된 시료의 methanol 추출물에 대한 arecoline의 함량을 HPLC로 정량한 결과, 각각의 시료에 함유된 arecoline의 함량은 0.2726±0.05532%이었고, 0.0056%부터 0.9483%까지 매우 큰 차이를 나타냈다. 이는 우리 나라에 반입되는 빈랑자의 산지가 인도네시아, 말레이시아 등 동남아 각지로, 그 생산지가 매우 다양하여 생산지의 기후등 환경의 차이에서 기인하는 것으로 생각된다(Table 1).

결 론

1. 빈랑자의 시료 중 묽은 EtOH ex.의 함량은 20.95±0.8861(n=20)이었으며 함량이 적게 나타난 것을 기준으로 할 때 묽은 EtOH ex.의 함량은 15% 이상이 적합할 것 같다.

Table 1. The yields of arecoline, ash and EtOH extract. of *Areca catechu*

No. of Sample	content of arecoline (%)	ash (%)	yield of EtOH extract (%)	Remarks
1	0.1140	5.14	12.17	대구
2	0.0056	5.43	19.57	대구
3	0.1556	4.86	18.70	광주
4	0.6083	6.00	27.83	부산
5	0.2971	4.57	22.61	부산
6	0.3284	4.84	23.04	서울
7	0.1093	4.57	23.91	서울
8	0.1242	4.57	23.48	서울
9	0.1600	6.25	25.65	수원
10	0.0256	4.29	28.70	인천
11	0.9483	4.82	22.61	안양
12	0.6867	5.13	22.17	과천
13	0.0760	4.86	24.78	충주
14	0.1930	5.13	20.44	안동
15	0.0984	4.85	19.06	서울
16	0.3217	5.32	17.08	대구
17	0.4214	6.35	23.35	광주
18	0.1932	4.36	19.86	수원
19	0.4316	5.03	22.45	부산
20	0.1542	4.97	21.45	청주
M	0.2726±0.0553	5.07±0.130	20.95±0.8861	

2. 빈랑자의 시료 중 회분은 $4.96 \pm 0.58 (n=19)$ 으로 약전의 2.5% 이하이어야 한다는 규정은 5% 이하로 개정되어야 할 것 같다.

3. 빈랑자 중 arecoline의 함량은 0.1% 이상이 적합한 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 1998년도 생약·한약재 품질표준화연구(식품의약품안전청)위 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 김재길 (1995) 동양전통약물원색도감, p. 278. 영림

사, 서울.

2. Inokuchi, I., Okabe, H., Yamauchi, T., Nagamatsu, A., Nonaka, G., Nishioka, I. (1986) Antihypertensive in seeds of *Areca catechu*, *Life Sci.* 38: 1375.
3. Bensky, L. (1992) Chinese Herbal Medicine, p. 197. Eastland Press, Seattle.
4. Inokuchi, I., Okabe, H., Yamauchi, T., Nagamatsu, A., Nonaka, G., Nishioka, I. (1985) Inhibitors of Angiotensin-converting enzyme in crude drugs, *Chem. Pharm. Bull.* 33(1): 264.
5. 손건호, 이주미, 이승호, 박정일, 강신정, 장승엽, 이경순 (1999) 지모의 근경으로부터 Anemarsaponin B의 분리 및 함량분석, *생약학회지*, 30(2): 163.

(2001년 2월 15일 접수)