

## 현호색의 품질 표준화 연구

김정아 · 최지영 · 김동춘 · 이희상 · 이승호\*

영남대학교 약학대학

# Determination of Dehydrocorydaline in the Corydalis Tuber Using HPLC-UVD

Jeong Ah Kim, Ji Young Choi, Dong Chun Kim, Hee Sang Lee and Seung Ho Lee\*

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan, 712-749, Korea

**Abstract** – Dehydrocorydaline was isolated from the roots of *Corydalis ternata* (Papaveraceae) and identified by the comparison the <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectral data with those of authentic sample. The content of dehydrocorydaline was determined by the HPLC analysis based on extraction of ground plant material. Quantitative analysis of dehydrocorydaline in MeOH extract of *C. ternata* by HPLC showed 1.31±0.95% in 20 samples collected throughout regions of Korea.

**Key words** – Dehydrocorydaline, Corydalis Tuber, Papaveraceae, Quantitative analysis, HPLC

현호색은 들현호색 *Corydalis ternata* Nakai 또는 기타 동속근연식물(양귀비과 Papaveraceae)의 덩이줄기이다. 이 생약은 대개 고르지 않은 편구형 또는 다각형을 이루고 지름 10~20 mm이며 몇 개의 흑모양의 돌기가 있고 한쪽 끝에 줄기의 자국이 있다. 바깥면은 회황색~회갈색이며 겉은 단단하고 깨어진 면은 평탄하거나 또는 입상으로 황색~회황갈색을 띤다. 냄새가 거의 없고 맛은 쓰다. 성분으로 (+)-corydaline, (-)-tetrahydrocoptisine, (±)-tetrahydropalmatine, (+)-glauanine, protopine, (+)-corybuline, (-)-tetrahydrocolumbamine, dehydrocorydaline, α-allocryptone, corydamine 등의 alkaloid를 약 0.5% 함유하고 있다.<sup>1)</sup> Tetrahydropalmatine은 진통, 진정 등의 중추억제 작용과 뇌하수체로부터 ACTH의 분비를 촉진하는 작용(mouse에 연속적으로 주사하면 갑상선의 중량이 증가)을 한다. 현호색 가루의 진통효과는 아편의 1/100로 강한편이며,<sup>2)</sup> 알칼로이드 함유 분획은 적출소장과 자궁에 대한 진정작용을 나타낸다. 제4급 염기 분획 및 dehydrocorydaline은 위액분비를 억제하여 항궤양작용을 나타내고, dehydrocorydaline은 소화성궤양의 발생을 억제하고 치유를 촉진한다. Protopine은 acetylcholinesterase의 활성을 억제하고, scopolamine으로 유도한 기억력감퇴를 개선한다.<sup>3)</sup> 또한 현호색에는 약한 중추성 진토작용이 있다.

Bulbocapnine HCl은 제제화되어 내용 또는 주사제로 사용되고 있으며 예로부터 한방에서는 정혈, 진통, 진경, 소화성궤양, 두통, 복통, 월경통 등에 사용하여 왔다.<sup>4)</sup> 이제까지 현호색의 성분 및 용도에 관한 연구는 많이 보고되었으나 현호색의 품질을 평가할 수 있는 지표물질의 선정이나 이를 이용한 성분함량에 대한 연구는 없었다. 따라서 우리나라에서 빈번하게 사용되어 오고 있는 생약이면서 산지에 따른 성분함량의 변화가 클 것으로 예상되는 현호색의 분석법을 확립하고 품질관리 기준을 설정하기 위해 지표물질을 선정함과 동시에 적절한 정량법이 절실히 요구되고 있다. 따라서 생약의 품질규격화 연구의 일환으로 현호색의 고유성분 이면서 함량이 비교적 많고 HPLC로 정량이 가능한 dehydrocorydaline을 지표성분으로 한 현호색의 함량분석법을 개발하고, 전국 각지에서 시판중인 현호색 중 dehydrocorydaline의 함량을 분석하여 현호색의 품질관리 기준을 설정하고자 한다.<sup>5)</sup>

### 실험재료 및 방법

**검체** – 전국을 서울, 경기, 충청, 전북, 전남, 경북, 경남, 강원 지역으로 분류하고 인구비례에 따라 20종의 현호색을 현지에서 구입하여 전문가의 확인을 받았다. 표품들은 현재 영남대학교 약학대학 천연물화학실험실에 보관 중 이다. 확인 받은 시료들을 각각 분말로 하여 약전체 20호를 통과한

\*교신저자 (E-mail): seungho@yu.ac.kr  
(Tel): 053-810-2818

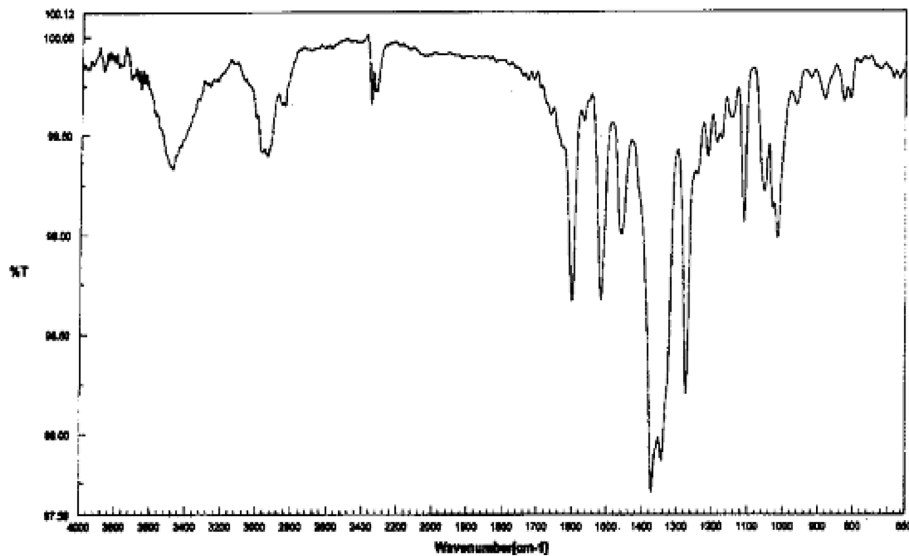


Fig. 1. IR spectrum of dehydrocorydaline

것을 실험의 재료로 사용하였다.

**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. 회분시험법 및 산불용성회분시험법에 사용된 회화로는 미국 Thermolyne사의 Furnace 47,900을 사용하였다.

**확인시험법** - 현호색 분말 500 mg에 묽은 초산 10 ml를 가하고 수욕상에서 때때로 흔들어서 섞으면서 3분간 가운 한 후 여과하고, 여액 5 ml에 Mayer시액 3적을 가했을 때, 황갈색 면상의 침전을 생성한다.

**묽은 EtOH 엑스 정량** - 전국 각지에서 판매되고 있는 현호색을 지역별 인구비율을 감안하여 20종을 구입하였다. 선정된 시료 20종에 대하여 각각 약 2.3 g을 정밀하게 달아 100 ml 플라스크에 넣고 묽은 에탄올 70 ml를 넣어 흔들어 주면서 5시간 추출하고, 다시 20시간 방치한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml로 될 때까지 묽은 에탄올로 씻었다. 여액 50 ml를 수욕상에서 증발 건조하고 105°C에서 4시간 건조하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 무게를 정밀하게 달고 2를 곱하여 묽은 에탄올엑스의 양으로 하였다. 검체량에 대한 엑스 함량(%)을 산출하였다.

**회분시험** - 미리 사기제 도가니를 500~550°C에서 한 시간 가열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 20종의 분석용 검체 약 3 g을 취하여 앞의 도가니에 넣고 그 무게를 정밀하게 달고 도가니의 뚜껑을 열어 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온도를 올려 500~550°C에서 네 시간 이상 가열하여 회화한 후 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 다시 잔유물이 항량이 될 때까지 회화하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달아 회분량(%)으로 하였다. 방냉

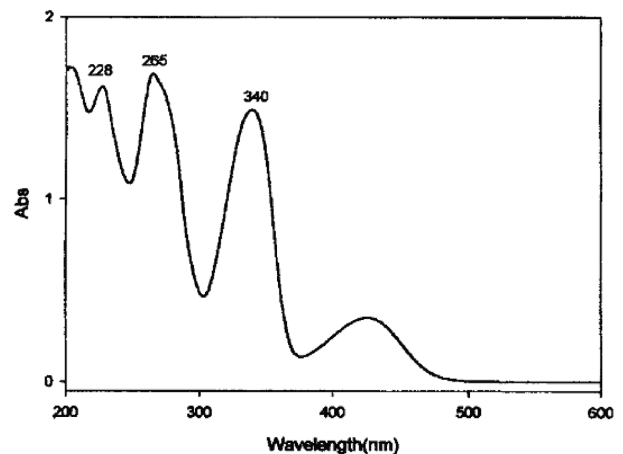
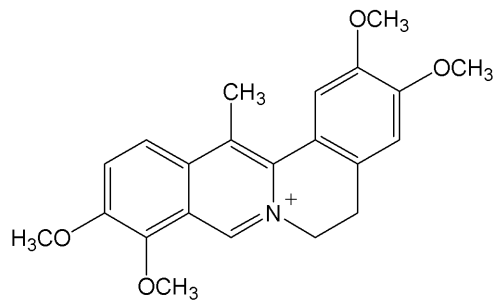


Fig. 2. UV spectrum of dehydrocorydaline

은 실리카겔을 넣은 데시케이터를 사용하였다.

**현호색으로부터 지표물질의 분리** - 전국에서 구입한 현호색 20종을 한데 모아 그 중에서 1 kg을 메탄올로 상온에서 1주일간 추출하였다. 추출액은 감압하에서 농축하여 추출액을 얻고, 이를 3% tartaric acid 용액에 현탁시킨 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 분획하고, 물층은 묽은 암모니아수로 알칼리성으로 한 후 클로로포름으로 3회 반복 추출하였다. 추출액은 한데 모아 감압농축하여 갈색의 분말 26 g을 얻었다. 이것을 silicagel column (5 cm×50 cm)에 loading 한 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-acetone(1:0-0:1)으로 용출시켜 알칼로이드 정색시약에 양성반응을 보이는 fraction 3-8 (4 g)을 얻었다. 이를 한데 모아 재차 silicagel column (2.5 cm×30 cm)에 loading 한 후 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-EtOAc로 용출시켜 MeOH로 재결정하여 dehydrocorydaline<sup>6)</sup> 300 mg을 얻었다(Fig. 1)(Fig. 2).



Dehydrocorydaline

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 10.68 (1H, s, H-8), 7.92 (1H, d, J=9.10 Hz, H-12), 7.87 (1H, d, J=9.10 Hz, H-11), 7.16 (1H, s, H-1), 6.93 (1H, s, H-4), 5.30 (2H, br s, H-6), 3.25 (2H, br s, H-5), 3.94 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-2), 4.35 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-3), 4.08 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-9), 4.00 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-10), 2.97 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-13).

<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 151.3, 150.5, 147.7 and 146.3 (C-2, C-3, C-9 and C-10), 146.5 (C-8), 128.5 (C-13), 125.4

(C-12), 119.7 (C-11), 136.3, 133.7, 132.2, 121.7 and 119.2 (C-4a, C-8a, C-12a, C-13a, C-13b), 113.9 (C-4), 110.7 (C-1), 63.2 (C-6), 28.2 (C-5), 57.1 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.9 (OCH<sub>3</sub>-9), 56.5 (OCH<sub>3</sub>-10), 56.2 (OCH<sub>3</sub>-2), 17.9 (CH<sub>3</sub>-N).

**HPLC용 표준액조제** – Dehydrocorydaline 5 mg을 HPLC 용 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 변수로하여 검량선을 작성하여 얻은 회귀직선 방정식은 y=34969761.3x-7175.047 (r<sup>2</sup>=0.9999)이었다.

**검액의 조제** – 검체 200 mg을 정확히 평량하여 methanol 5 ml를 가해 60°C에서 3시간 추출한 후 여과하여 얻은 여액을 감압 농축하여 methanol추출물을 얻었다. 이를 HPLC 용 methanol에 용해시켜 0.45 μm membrane filter로 여과하여 여액을 5 ml로 조정, 검액으로 사용하였다. 각각의 검액을 10 μl씩 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram에서 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로부터 각각의 지표물질의 함

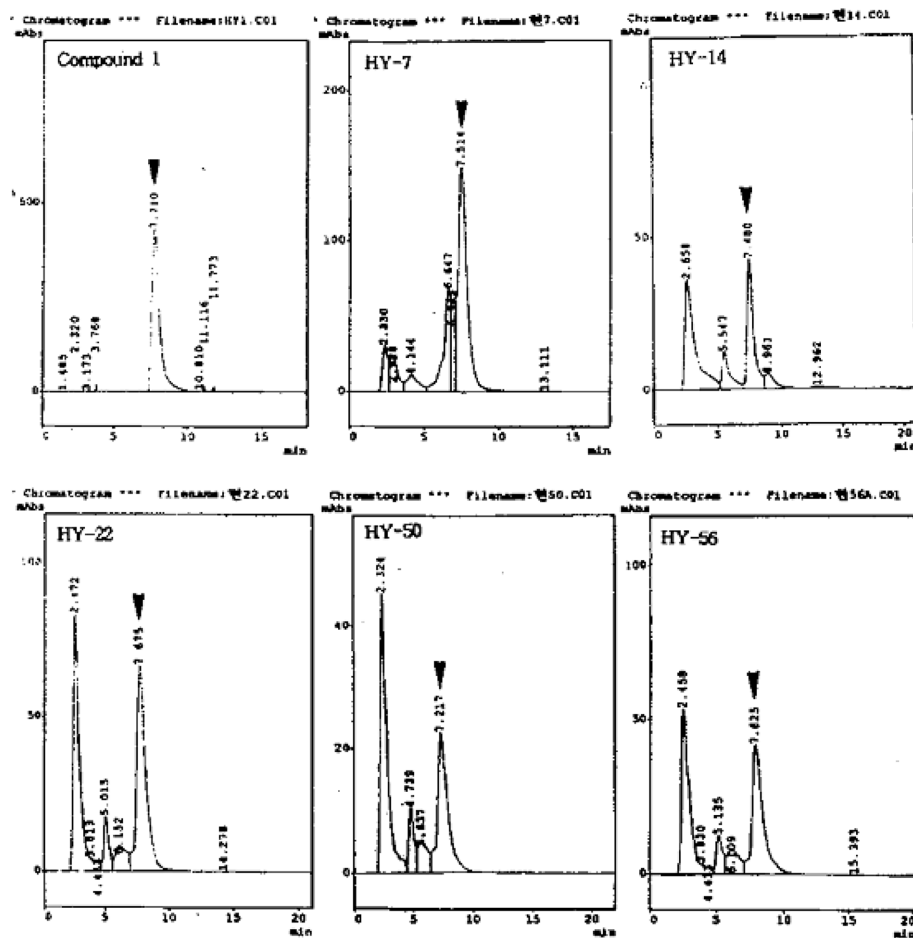


Fig. 3. HPLC chromatogram of dehydrocorydaline and MeOH extracts of *C. ternata*

**Table I.** The content of dehydrocorydaline, ash and EtOH ex. of *Corygalis ternata*

No of sample.	yield of dehydrocorydaline (%)	yield of ash	yield of EtOH ex. (%)	remarks.
HY-3	2.30	5.14	11.74	대구
HY-5	2.30	5.13	16.52	구미
HY-7	2.87	6.29	15.22	대구
HY-11	1.65	5.70	28.26	광주
HY-12	2.30	5.14	9.57	광주
HY-14	0.73	4.17	19.13	부산
HY-17	2.32	5.14	11.30	부산
HY-22	1.56	4.86	23.48	서울
HY-25	3.15	5.71	12.78	서울
HY-28	1.62	5.11	12.61	서울
HY-33	1.33	4.86	15.22	서울
HY-35	0.07	5.41	11.74	수원
HY-38	0.50	5.43	15.22	인천
HY-41	2.30	4.86	11.30	인천
HY-45	1.01	6.00	13.04	과천
HY-46	2.30	5.70	11.30	청주
HY-49	0.15	5.14	17.83	유성
HY-50	0.65	4.86	26.52	공주
HY-54	0.87	4.84	15.65	춘천
HY-56	1.12	5.43	28.70	안동
	1.31 ± 0.95 (n=15)	5.27 ± 0.44 (n=20)	16.36 ± 9.92 (n=20)	

량을 구했다.

**HPLC의 분석조건** - Column은 Shim-pak CLC-ODS (M)을 사용하였으며, Detector는 UV-338 nm를 사용하였다. Mobile phase는 0.01 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (pH 8.33): Acetonitrile = 3 : 7에 SDS를 0.1% (v/v)을 가하여 사용하였고, Flow rate는 1 ml/min이었다.

**Dehydrocorydaline의 함량** - 미리 조제된 검액을 10 µl씩 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram에서 면적을 구하여 회귀방정식으로부터 각각의 dehydrocorydaline의 함량을 구하였다(Fig. 3).

### 결과 및 고찰

각지에서 구입한 20종의 시료를 육안으로 관찰했을 때 색깔의 차이가 현저했다. 즉 11종(55%)은 현저한 황색계통의 색조를 나타내었고, 5종(25%)은 검은색 계통, 나머지 4종(20%)은 현저한 백색 계통의 색조를 나타냈다. 현호색에 들어있는 알칼로이드를 지표로 하여 초산산성용액으로 알칼

로이드를 추출하고 Mayer시약으로 정색반응을 실시한 결과 모든 시료에서 양성을 나타냈다. 지표물질인 dehydrocorydaline의 Rf치는 0.38 (silicagel, 10% MeOH in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)이었다. 약전의 일반시험법에 규정하고 있는 방법에 의하여 묽은 EtOH 엑스의 함량을 정량한 결과, 수율은 16.36±9.92%였다. 각 시료별로 편차가 큰 것은 외관상으로도 구별이 되듯이, 생산지의 차이에 의하여 종이 다르기 때문이라고 사료되며 함량이 적은 경우를 기준으로 하더라도 묽은 EtOH 엑스량은 10% 이상으로 하면 타당하리라 생각된다. 실험에 사용된 20종의 회분함량은 5.27±0.44%로 약전에 규정하고 있는 3.0%보다는 많았으며, 함량이 낮은 경우를 감안하면 회분함량은 5%이하가 타당할 것 같다. 현호색의 고유성분이면서 함량이 비교적 많고 HPLC로 쉽게 정량이 가능한 물질인 dehydrocorydaline을 지표물질로 한 정량 실험에서는 전국각지에서 인구비례에 의하여 수집한 현호색 20종의 시료를 실험에 사용하였다. 시료의 MeOH 추출물에 함유된 지표물질의 함량은 1.31±0.95%로 시료간의 편차가 매우 심했다. 이는 시료의 외관에서도 20종의 시료가 색깔에 따라 3종류로 구별이 되는 것으로 보아 유입되는 현호색의 산지에 따른 생육환경의 차이, 사용되는 종의 차이에 기인하는 것 같다. 검체 중 지표물질의 함량은 0.07%부터 3.15%까지로 매우 변화가 심했으나, 함량이 매우 낮은 HY-35를 제외하면 모두 0.5%이상의 지표물질을 함유하고 있다.

### 결 론

1. 현호색의 시료 중 묽은 EtOH의 함량은 16.36±9.92%였으며, 묽은 EtOH 함량은 10% 이상이 적합할 것 같다.
2. 현호색의 회분함량은 5.27±0.44%였으며 약전에 규정하고 있는 3%보다는 많았으며 5%이하로 하는 것이 타당할 것 같다.
3. 현호색의 MeOH 추출물중 dehydrocorydaline의 함량은 1.31±0.95%였다.

### 사 사

본 연구는 학술진흥재단의 중점연구소 연구비(KRF-2006-005-J01101)에 의해 수행 되었기에 감사드리며, 공동 저자인 김동춘, 이희상은 BK21의 장학금 수혜자임.

### 참고문헌

1. 생약학교재편찬위원회 (2006) 생약학, 290-292, 동명사, 서울.
2. 정보섭, 신민교 (1990) 향약(생약대사전 식물편, 영림사, 서울.

3. Kim S. R. *et al.* (1999) *Planta Med.*, **65**: 218-221.
4. 약품식물학회 (1991), *신약품식물학*, 271, 학창사, 서울.
5. Lee, S. H. *et al.* (2001) Isolation and quantitative Determination of Arecoline from *Arecae Semen*, *Kor. J. Pharmacogn.*, **32**(1): 39-42.
6. Shengqiang Tong and Jizhong Yan (2005) Preparative Isolation and Purification of Alkaloids from *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang by High Speed Counter-Current Chromatography, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **28**: 2979-2989.

(2008년 11월 9일 접수)