

들현호색으로부터 Berberine과 Coptisine의 분리 및 함량분석

이향이, 김종원*

대구효성가톨릭대학교 약학대학

Isolation and Quantitative Determination of Berberine and Coptisine from Tubers of *Corydalis ternata*

Hyang Yi Lee and Chong Won Kim*

College of Pharmacy, Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyongsan 712-702, Korea

Abstract – *Corydalis* Tuber has been used in traditional medicine for an analgesic, antispasmodic and gastric ulcers. For the quality control on this drug, isolation and quantitative determination of berberine and coptisine from *Corydalis ternata* Nakai (Papaveraceae) has been conducted by using HPLC method. Berberine and coptisine in quaternary alkaloidal fraction from the crude drug were separated on silicagel column using a $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (85:15) and $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (70:30:4) as an eluent, and the average contents were about 0.93 and 0.36%.

Key words – *Corydalis ternata*; Papaveraceae; quantitative determination of berberine and coptisine; HPLC method.

현호색은 양귀비과 (Papaveraceae)에 속하는 들현호색 (*Corydalis ternata* Nakai) 및 동속식물의 괴경으로 예로부터 한방에서 정혈, 진통, 진경약으로 두통, 복통, 월경통등에 사용하여 왔다.¹⁾ 현호색의 성분에 관한 실험은吳^{2,3)}가 한국산 현호색에서 l-glaucin, l-tetrahydrocoptisin을, Takemoto 등⁴⁾이 동경 시장에서 구입한 것을 한국산 현호색으로 그 기원식물을 *Corydalis bulbosa* var *typica*와 *C. Nakai*로 생각하였으며 그 혼합품에서 3급염기인 l-corydaline, protopine, α-allocryptopine, l-canadine, l-corydine, isocorydine, l-glaucine, tetrahydrocoptisin을 단리하였으며 Kaneko 등⁵⁾은 Osaka시장에서 구입한 것으로 그 기원식물을 *Corydalis nakaii*로 생각하고 3급염기로 l-tetrahydrocolumbamine, protopine, α-allocryptopine, l-canadine, l-tetrahydrocoptisine을, 4급염기로서 coptisine, berberine을 단리하였다.⁶⁾ 그러나, 중국산 현호색 *Corydalis yanhusuo*와 *C. ambigua*, *C. decumbens*, *C. lineariloba*에는 공통적으로 berberine이 함유되어 있지 않으며, *C. ambigua*와 *C. decumbens*에는 coptisine

이 함유되어 있지 않다.⁷⁾ 현호색의 성분 정량법으로는 주로 일본약국방에 따라 HPLC를 이용한 dehydrocorydaline의 함량을 정량하고 있다.⁸⁾ 그러나 한국산 현호색의 경우 dehydrocorydaline의 함량보다는 berberine과 coptisine의 함량이 훨씬 높은 것으로 나타나므로⁷⁾ 현호색의 품질평가를 위하여 berberine과 coptisine을 지표물질로 하여 HPLC를 이용한 분석법을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 들현호색 (*Corydalis ternata*)은 1999년 경남 하동의 재배지에서 직접 구입하여 사용하였다.

일반시험 – 대한약전의 생약시험법에 따라 전조감량, 회분, 산불용성회분, 엑스함량을 실험하였다. 모든 실험은 각 검체마다 3회씩 실시하여 그 평균값을 구하였다.

추출 및 분리 – 조말로 한 현호색 500 g을 95% methanol로 3시간씩 3회 추출한 후 감압농축하고 상법에 따라 3급염기와 4급염기를 분리하고 4급 염기부를 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (85:15)와 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$

*교신저자 : Fax 053-850-3602

(70:30:4)를 전개용매로 silica gel column chromatography를 거듭 실시하여 황색 침상 결정 compound I과 주황색 판상 결정 compound II를 분리하였다.

Compound I의 분리 – Mp 160~163°C (deco pm.); IR, ν max(KBr, cm⁻¹): 1610, 1505; EI-MS, m/z (rel. int.): 337 ($M+H$)⁺(65.56), 321 (100.0), 306 (95.80), 292(93.28); ¹H-NMR (500 MHz, DM SO-*d*₆) δ : 3.21 (2H, t, *J*=6.2Hz, H-5), 4.07 (3H, s, 10-OCH₃), 4.10 (3H, s, 9-OCH₃), 4.94 (2H, t, *J*=6.0 Hz, H-6), 6.17 (2H, s, -O-CH₂-O-), 7.09 (1H, s, H-4), 7.80 (1H, s, H-1), 8.01 (1H, d, *J*= 9.0Hz, H-12), 8.20 (1H, d, *J*=9.0Hz, H-11), 8.94 (1H, s, H-13), 9.89 (1H, s, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 106.3 (C-1), 122.2 (C-1a), 148.5 (C-2), 150.7 (C-3), 109.3 (C-4), 131.5 (C-4a), 27.2 (C-5), 56.0 (C-6), 146.3 (C-8), 121.3 (C-8a), 144.5 (C-9), 151.2 (C-10), 127.6 (C-11), 124.3 (C-12), 133.8 (C-12a), 121.0 (C-13), 138.3 (C-13a), 62.8 (-OC H₃), 57.9 (-OCH₃), 102.9 (-OCH₂O-).

Compound II의 분리 – Mp>300°C(decomp.); IR, ν max (KBr, cm⁻¹): 1606, 1507; EI-MS, m/z (rel.int): 320 (M)⁺(100.00), 292 (19.47), 272 (41.83); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3.17 (2H, t, *J*= 6.0 Hz, H-5), 4.88 (2H, t, *J*=6.0Hz, H-6), 6.16 (2H, s, -OCH₂O-), 6.52 (2H, s, -OCH₂O-), 7.07 (1H, s, H-4), 7.78 (1H, s, H-1), 7.81 (1H, d, *J*= 8.7Hz, H-12), 8.03 (1H, d, *J*=8.7Hz, H-11), 8.97 (1H, s, H-13), 9.96 (1H, s, H-8); ¹³C-NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 105.6 (C-1), 121.6 (C-1a), 147.4 (C-2),

148.2 (C-3), 108.7 (C-4), 130.8 (C-4a), 26.5 (C-5), 55.4 (C-6), 144.8 (C-8), 120.8 (C-8a), 144.1 (C-9), 150.1 (C-10), 121.3 (C-11), 122.1 (C-12), 132.7 (C-12a), 126.9 (C-13), 137.2 (C-13a), 102.4 (-OCH₂O), 104.1 (-OCH₂O).

HPLC 분석조건 – Instrument: Waters TM600, column: μ -Bondapak C₁₈ (3.9 × 300 mm), detector: UV 340 nm, mobile phase: 1/15M-KH₂PO₄; CH₃CN:SDS (300:270:3.3), flow rate: 1ml/min

검액의 조제 – 검체 약 5g을 정밀하게 달아 MeOH:HCl(100:1) 25 ml를 넣어 3시간씩 3회 가열 추출한 후 여과하여 여액을 취하고 플라스크 및 잔류물을 methanol로 세척하여 추출액과 세척액을 합하여 정확하게 100 ml로 한 다음 검액으로 사용하였다.

검량선의 작성 – 분리한 compound I, II 각각 2mg을 methanol에 녹여 10 ml로 한 다음 이를 stock solution으로 하여 각각 200 μ g/ml, 400 μ g/ml, 600 μ g/ml의 농도로 표준용액을 조제하였다. 각 표준용액 10 μ l씩을 취하여 HPLC를 실시하고 얻어진 chromatogram으로부터 농도와 peak 면적사이의 검량선을 작성하였다.

결과 및 고찰

현호색에 대하여 대한약전의 생약시험법에 따라 일반시험을 행한 결과, 건조감량은 12.73%, 회분은 1.88%, 산불용성회분은 0.09%를 나타내었으며 엑스 함량실험에서 붉은 에탄올 엑스는 5.29%, 수성엑스는 7.48%, 에텔엑스는 0.24%를 나타내었다. 또한 현호색을 추출하여 4급염기부로부터 silicagel column

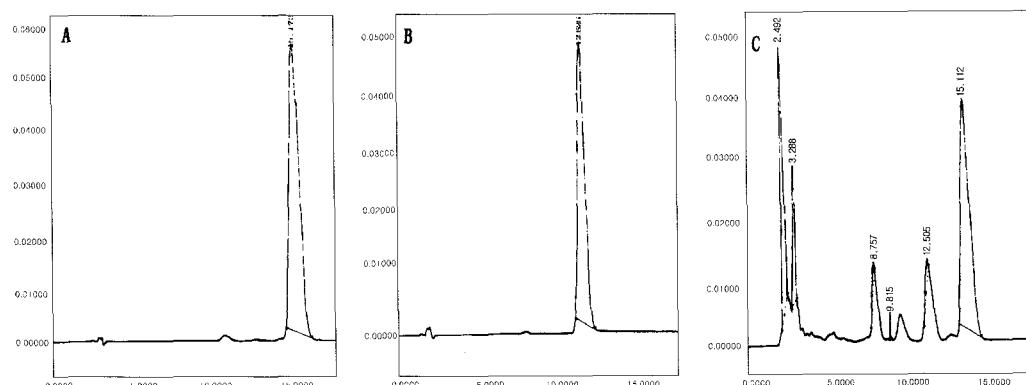


Fig. 1. HPLC chromatogram of *Corydalis ternata*. A: berberine, B: coptisine, C: *Corydalis ternata*

chromatography를 실시하여 compound I, II를 분리하였다. 분리된 compound I은 berberine과, compound II는 coptisine과 이화학적 성상 및 spectral data가 문헌치^{9~11)}와 잘 일치하므로 이를 확인할 수 있었다. 분리한 berberine과 coptisine을 지표물질로 그 함량을 분석하기 위해 HPLC를 실시한 결과 Fig. 1과 같은 chromatogram을 얻을 수 있었으며, berberine은 t_R 15.1, coptisine은 t_R 12.5 분대에서 나타나는 강한 peak와 일치하였다. 지표물질을 사용하여 검량선 작성시 회귀직선방정식은 각각 $Y=4.67382X-143.671$ ($r=0.999$), $Y=4.42721X-93.798$ ($r=0.999$)로 직선성이 인정되었으며 검체중의 함량은 berberine은 0.93%, coptisine은 0.36%로 나타났다.

이상의 결과로 볼 때 현호색의 품질평가시 지금까지는 주로 일본의 방법대로 dehydrocorydaline의 함량을 정량해왔으나 한국산 현호색의 경우 berberine과 coptisine의 함량이 훨씬 높게 나타나므로 berberine, 혹은 coptisine의 정량을 통한 품질평가도 가능하다고 생각된다.

인용문헌

1. 약품식물학연구회, 1991, 신약품식물학, 271. 학창사, 서울.
2. 吳場(1930) 朝鮮產廷胡素の 成分研究(第四報), 日本藥學雜誌 50: 933-940.
3. 吳場(1930) 朝鮮產廷胡素の 成分研究(第五報), 日本藥學雜誌 50: 940-944.
4. Tunematsu, T., Kazne, K. and Yoshikazu, K. (1964) Studies on the constituents of Corydalis. I. Constituents of Korean Corydalis. (1). *Yakugaku Zasshi* 84(8): 721-724.
5. Hidehiko, K., Shunsuke, N. and Noboru I. (1967) Studies on the constituents of Corydalis sps. III. Studies on the tertiary phenolic-base of Korean Corydalis. *Yakugaku Zasshi* 87(11): 1382-1386
6. Hidehiko, K., Shunsuke, N. and Noboru, I. (1968) Studies on the constituents of Corydalis sps. IV. Studies on the quaternary base of Korean Corydalis. *Yakugaku Zasshi* 88(2): 235-238
7. Tsuneo, N. (1980) The encyclopedia of Wakan-yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines) with color pictures Vol. I . 84. Hoikusha, Osaka
8. 원도희, 이해빈, 조필형, 홍남두, 장승엽, 조정희, 김혜수, 성락선 (1991), 상용생약의 성분정량, 27. 성은, 서울.
9. Hwang, S. Y., Chang, Y. P., Byun, S. J., Jeon M. H. and Kim, Y. C. (1996) An acetyl cholinesterase inhibitor isolated from *Corydalis* Tuber and its mode of action. *Kor. J. Pharmacogn.* 27(2) : 91-95
10. Shamma, M. and Hindenlang, D. M. (1979) Carbon-13 NMR shift assignments of amines and alkaloids, 144. Plenum Press, New York
11. Lee, H. Y. and Kim, C. W. (1997) Studies on the constituents of *Berberis amurensis* Ruprecht. *Kor. J. Pharmacogn.* 28(4): 257-263

(1999년 5월 27일 접수)