

## *Fritillaria*속 식물의 HPLC에 의한 비교분석

권용수 · 홍성숙 · 김창민\*

강원대학교 약학대학

### Comparative Analysis of *Fritillaria* Species by HPLC

Yong Soo Kwon, Sung Sook Hong and Chang Min Kim\*

College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**Abstract** – In order to investigate alkaloid contents in different *Fritillaria* species, we analyzed 17 *Fritillaria* species by HPLC using prederivatization method. The contents of alkaloid fr.5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone and delavine were analyzed and compared.

**Key words** – *Fritillaria* species, HPLC, prederivatization method, alkaloid contents, comparative analysis

*Fritillaria*속 식물은 Family Liliaceae, Subfamily Lilioideae, Tribe Lillieae에 속하는 다년초로서 세계적으로 60여 종류가 있으며, 북반구의 온대 지방에 주로 분포하고 있고,<sup>1)</sup> 우리나라에는 패모 *Fritillaria ussuriensis*가 북부에 분포하고 있다.<sup>2)</sup>

*Fritillaria*속 식물의 인경은 일반적으로 貝母라 하여 化痰止咳, 清熱散結하는 효능에 의해 咳嗽, 癰疽, 등에 널리 사용되고 있으며, 吐痰咯血, 心胸鬱結, 肺, 편도선염, 급성 유선염 등의 치료에 응용되고 있다.<sup>3,4)</sup> 패모는 그 기원이 나라마다 다른데 우리나라와 일본은 *F. thunbergii*의 근경을 지정하고 있으며,<sup>5,6)</sup> 중국약전은 川貝母, 平貝母, 伊貝母 및 浙貝母의 4종류를 각각 독립하여 수재하고 있다. 그 기원을 보면 川貝母는 川貝母 *F. cirrhosa*, 暗紫貝母 *F. unibracteata*, 甘肅貝母 *F. przewalskii* 또는 梭砂貝母 *F. delavayi*이고, 平貝母는 平貝母 *F. ussuriensis*이며, 伊貝母는 新疆貝母 *F. walujewii* 또는 伊犁貝母 *F. pallidiflora*이고, 浙貝母는 浙貝母 *F. thunbergii*를 지정하고 있다. 또한, 중국약전에서는 패모를 모양과 크기에 따라 다시 세분하고 있는데 川貝母 중 川貝母, 暗紫貝母 또는 甘肅貝母로부터 유래된 패모는 松貝, 靑貝로 구분하고

있고, 梭砂貝母로부터 유래된 패모는 爐貝로 지정하고 있다. 그러나 이들의 약리적인 차이나 임상응용에 대한 지표는 지정하지 않고 있다.<sup>7-9)</sup> 본 속 식물에 함유된 성분은(C-nor-D) homosteroidal alkaloid가 주종을 이루고 있는데 Atta-ur-Rahman의 분류방법에 따르면 Ceveratrum-, Jerveratrum-, Solanidine-, Secosolanidine-, Spirosolane- 및 Pregnane-type이 함유되어 있고, 그 중에서 가장 많이 분포하고 있는 화합물은 Ceveratrum type과 Jerveratrum type이다.<sup>10)</sup>

이들 성분에 대한 종간의 차이에 대해서는 Chao와 Hu가 본 속 식물 12종에 대해서 HPLC에 의해 peimisine의 함유상을 비교, 보고한 바가 있고,<sup>11)</sup> Ding 등<sup>12)</sup>이 *F. cirrhosa*, *F. thunbergii*, *F. hupehensis*를 대상으로 verticine, verticinone, isoverticine, ebeiedine 및 ebeiedinone의 분포상을 보고한 바가 있을 뿐이다. 또한 이들 alkaloid 성분의 약리활성에 대해서는 peimine, peiminine을 대상으로 혈압강하작용, 진해작용, 진정작용 등을 연구 보고한 바 있고,<sup>13,14)</sup> Kaneko 등은 중국시장에서 입수한 *F. verticillata*, *F. delavayi*, *F. cirrhosa*를 대상으로 그 MeOH ext, crude alkaloid 및 이 식물에서 분리한 verticine, delavine, imperialine, chuanbeinone에 대하여 toxicity, antiulcer, anti-histamine, anti-choline, anti-serotonin, coronary dilator, cardiotropic, diuretic,

\*교신저자 : Fax : 033-255-9041

anti-Parkinson 및 anti-writhing을 비교한 보고 등이 있다.<sup>15)</sup>

이상과 같이 패모는 중국약전에 4종류가 독립적으로 수재되어 있고, 같은 종류라 하더라도 기원식물이 다르며, 기원이 같은 경우에도 품종에 따라 외형이 다름에도 불구하고 그 성분상이나 약리활성에 따른 임상응용상의 차이를 제시하지 못하고 있어 그 성분상이나 약리활성에 대한 비교가 필요한 실정에 있다. 이에 본 연구자 등은 성분에 의한 패모 상호간의 차이를 밝힐 것을 목적으로 실험에 착수하였으며, 패모의 성분상비교실험의 표준품을 분리하기 위하여 함유 성분에 대한 보고가 미흡한 新疆貝母 *F. walujewii*를 대상으로 4종의 화합물을 분리, 보고한 바 있다.<sup>16)</sup> 본 연구는 이 화합물들 중 3종의 화합물을 표준품으로 사용하여 HPLC에 의해 각종 패모내 성분 함량을 비교하여 패모 품종간 성분상에 관한 약간의 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 신강패모(*F. walujewii*)와 16종류의 패모를 1997년 8월, 중국의 성도 중약시장에서 구입하여 사용하였으며, 표준품은 강원대학교 약학대학 생약표본실에 보관중이다.

**HPLC의 분석조건** - 패모의 정량에 사용한 HPLC는 Thermo separation products, Inc.의 SpectraSystem<sup>®</sup>과 SpectraSeries Pumps를 사용하였다. column은 Phenomenex<sup>®</sup>의 Prodigy ODS-2(5  $\mu$ m, 250 $\times$ 4.6 mm), guard column은 Prodigy ODS-2(5  $\mu$ m, 30 $\times$ 4.6 mm)를 사용하였고, multiple wavelength UV detector는 224 nm에서 측정하였으며, mobile phase는 MeOH:H<sub>2</sub>O:diethylamine(95:5:0.2), flow rate는 1.2 ml/min로 측정하였다.

**검액의 조제 및 치환** - 각 패모 분말(40 mesh)을 정밀하게 10 g을 취한 다음 NH<sub>4</sub>OH를 3 ml 가하고, CHCl<sub>3</sub> 75 ml를 가한 후 마개를 닫고 24시간 동안 방치한 후 여과하고, 여액을 감압하에서 증발 건조한 다음 무게를 측정하여 alkaloid 추출물로 하였으며, 여기에 acetonitrile 5 ml를 가한 다음 60°C 수욕상에서 10분간 진탕한 후 3 ml를 취해 치환할 검액으로 사용하였으며, 이 검액에 1-naphthoyl chloride 42.2  $\mu$ l, thionyl chloride 2.11  $\mu$ l를 가한 다음 정밀하게 10 ml가 되도록 acetonitrile을 가하였다. 그리고 thermolyne dry bath에서 2시간 동안 88°C로 가열하여 반응시킨 다음 15분간 냉각한 후 HPLC에 의해 분석하였다.<sup>12)</sup>

**표준 검량선의 작성** - 전보<sup>16)</sup>에서 분리한 화합물을 표준품으로 사용하기 위해 fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone, delavine을 각각 1.8, 1.2, 0.9, 0.6, 0.3 mg을 취한 다음 위의 치환방법과 같은 방법으로 치환하여 HPLC에 의해 분석하여 chromatogram을 얻고 이로부터 면적을 구하였다. Alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone 및 delavine의 회귀직선 방정식에 관한 parameter는 Table I과 같다.

Alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone, delavine의 함량 - 전항에서 조제한 검액으로 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram으로부터 용량추출법에 의한 alkaloid 추출물과 alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone 및 delavine의 면적을 구하고 회귀직선 방정식에 대입하여 각각의 함량을 구하였으며(Table II), 이를 치환전 농도로 환산하여 비교하였다.

## 결과 및 고찰

化痰止咳平喘藥으로 한방에서 널리 사용되고 있는 패모는 나라마다 지정하는 기원이 다르고, 중국약전에

**Table I.** Calibration curve data for Quantification of alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone and delavine

Analyte	HPLC t <sub>R</sub> (min)	Standard curve	r
Alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine) derivative	4.5	y=621.3217 $\chi$ +9311.25 $\chi$ =0.0015y-7.8166	0.9652
delavinone derivative	17.5	y=212.1076 $\chi$ -1779.44 $\chi$ =0.0045y+11.467	0.9794
delavine derivative	19.5	y=348.2383 $\chi$ -246.05 $\chi$ =0.0029y+0.7363	0.9998

y=peak area;  $\chi$ =concentration of standard solution before derivatization ( $\mu$ g/ml); r=correlation coefficient

**Table II.** Content of alkaloids in *Fritillaria* species

Drug name in Chinese Pharmacopoeia	Another name	Commercial name	Alkaloid Ex. (mg/ml)	Alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine) ( $\mu$ g/ml)	Delavinone ( $\mu$ g/ml)	Delavine ( $\mu$ g/ml)
川貝母	松貝	野生松貝	13.4	16.877	8.784	0
		(吉林產)松貝	22.2	112.010	1.254	0
		本色貝母	22.2	52.400	48.019	0
		原藏松貝	17.5	38.186	33.466	0
		細貝母	13.6	19.346	40.631	6.634
		葦河貝母	12.9	16.842	26.646	0
		青貝 (四川產)青貝	17.7	50.868	38.322	2.248
	爐貝	爐貝	27.8	12.150	153.460	25.269
浙貝母	浙貝	浙貝	42.4	13.363	28.752	0
平貝母	平貝	平貝	18.8	37.519	4.539	0
伊貝母	伊犁貝	伊犁貝	25.6	117.02	92.381	0
	新疆貝	新疆貝	18.8	98.411	94.662	9.908
		湖北貝母	39.4	27.912	133.410	15.510
		太白貝母	20.2	20.239	81.578	10.339
		東貝母	54.8	46.475	34.060	0
		小平貝母	63.5	69.307	189.560	3.519
		(浙江產)小貝母	30.8	74.319	461.270	28.999

4종류가 각각 독립적으로 수재되어 있으며, 같은 종류라 하더라도 기원식물이 다르고, 기원이 같은 경우에도 품종에 따라 외형이 다름에도 불구하고, 그 사용상에 기준이 될 만한 성분상이나 약리활성에 대한 비교가 미흡한 실정이다.

이에 본 연구자 등은 폐모의 성분상을 HPLC에 의해 비교, 검토하여 하나의 감별기준으로 제시하고자 실험에 착수하여 新疆貝母(*Fritillaria walujewii*)로부터 분리한 alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine), delavinone 및 delavine을 표준품으로 선정하였다. 그러나, 이들 화합물은 일반적인 검출방법으로는 정량에 어려움이 있어 Ding 등<sup>12)</sup>의 방법에 따라 검체를 치환시켜 검출능을 향상시킨 후 HPLC에 의한 분석을 실시하여 그 결과를 Table II에 나타내었다. 17종류의 폐모중 표준품으로 사용한 3개의 화합물 중 alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine)의 함량은 (吉林產)松貝(112.0  $\mu$ g/ml), (四川產)青貝(50.9  $\mu$ g/ml),伊犁貝母(117.0  $\mu$ g/ml),新疆貝母(98.4  $\mu$ g/ml),小平貝母(69.3  $\mu$ g/ml) 및 (浙江產)小貝母(74.3  $\mu$ g/ml)에서 높게 나타났고, delavinone은 爐貝母(153.5  $\mu$ g/ml),湖北貝母(133.4  $\mu$ g/ml),小平貝母(189.6  $\mu$ g/ml) 및 (浙江產)小貝母(461.3  $\mu$ g/ml)에서 함량이 높게 나타났으며, delavine은 爐貝母(25.3  $\mu$ g/ml),湖北貝母(15.5  $\mu$ g/ml),太白貝母(10.3  $\mu$ g/ml) 및

(浙江產)小貝母(29.0  $\mu$ g/ml)에서 높은 함량이 나타났다. 또한, 중국 약전의 분류에 따른 결과를 보면 川貝母로 분류되는 것 중에서 (吉林產)松貝는 alkaloid fr-5(11-deoxo-6-oxo-5 $\alpha$ ,6-dihydrojervine)의 함량이 112.0  $\mu$ g/ml로 특이하게 높았으며, delavinone의 함량은 1.3  $\mu$ g/ml로 특이하게 낮았다. Delavine은 細貝母(6.3  $\mu$ g/ml), (四川產)青貝(2.2  $\mu$ g/ml) 및 爐貝(25.3  $\mu$ g/ml)에만 함유되어 있었다.伊犁貝母로 분류되는 것 중에서는新疆貝母가 9.9  $\mu$ g/ml의 delavine을 함유하는 것이 다를 뿐 커다란 차이는 없었다. 이상의 결과만으로는 폐모의 종류간 차이에 대해서 결론을 내릴 수 없었으며 폐모의 종류간 차이를 밝히기 위해서는 성분상의 검토뿐 아니라 형태학적인 연구나 기원식물에 대한 연구가 복합적으로 수행되어야 할 것으로 사료된다.

## 인용문헌

1. 中國科學院中國植物志編纂委員會 (1978) 中國植物志 14, p. 97. 科學出版社, 北京.
2. 이창복 (1982) 대한식물도감, p. 211. 향문사, 서울.
3. 江蘇新醫學院編 (1977) 中藥大辭典 上冊, p. 266. 上海科學技術出版社, 上海.
4. 林通國 (1985) 中藥學, p. 260-261. 湖南科學技術出版社.

5. 보건사회부 (1984) 대한약전의 생약규격집, p. 146. 보건사회부, 서울.
6. 厚生省藥務局審査課 (1991) 日本藥局方外 生藥規格集, p. 46, 藥事日報社, 東京.
7. 中華人民共和國藥典委員會 (1990) 中華人民共和國藥典, p. 244. 北京人民衛生出版社, 北京.
8. 南京藥學院編 藥材學, pp. 465-470. 昭華文化服務社.
9. 任仁安 (1984) 中藥鑑定學, pp. 215-220. 上海科學技術出版社, 上海.
10. Atta-ur-Rahman (1990) Handbook of Natural Product, p. 348. Elsevier, Amsterdam.
11. Chao, R. B. and Hu, L. (1993) Study on analysis of peimisine in Bulbus Fritillariae by HPLC. *Acta Pharmaceutica Sinica* 28: 705-708.
12. Ding, K., Lin, G., Ho, Y.P., Cheng, T.Y. and Li, P. (1996) Prederivatization and high-performance liquid chromatographic analysis of alkaloid of bulbs of *Fritillaria*, *J. Pharm. Sci.* 85: 1174-1179.
13. Kitajima J., Noda, N., Ida, Y., Miyahara, K. and Kawasaki, T. (1981) Steroid alkaloids of fresh bulbs of *Fritillaria thunbergii* and of crude drug "Bai-Mo", *Heterocycles* 15: 791-796.
14. Qian, B.C. and Xu, H.J. (1985) Antitussive and sedative effects of peimine and peiminine, *Acta Pharmaceutica Sinica* 20: 306-308.
15. 金子 光, 勝原 孝雄, 吉田 問利, 陳 玉盤, 許 源 (1985) 漢藥貝母的藥理活性について, 和漢醫藥學會誌 2: 496-497.
16. 홍성숙, 김양일, 권용수, 김창민 (1998) *Fritillaria walujewii*의 alkaloid 성분, 생약학회지 29: 104-109.

(2001년 11월 9일 접수)