

생약(漢藥材)의 규격제정 연구

TLC를 이용한 정성적 검출법

池 亨 浚 · 元 道 喜

서울대학교 생약연구소 · 국립보건연구원 약품부

Studies on

Physico-Chemical Identification of Botanical Drugs

Hyung Joon CHI · Do Hi WON

Natural Products Research Institute, Seoul National University and
Drug Department, National Institute of Health, Seoul, Korea

A new physico-chemical method for identifying botanical drugs was investigated. Fifty drugs were chosen from the presently exported botanical drugs and were classified into 12 groups chemotaxonomically. Various extracts(ether, 50% ethanol and water) of each group were developed with same solvent system by using chromatographic method(TLC) and observed a characteristic pattern of each drugs. This method, therefore, can be applicable to identify each botanical drug out of the combined phyto-preparations.

서 론

天然性醫藥品인 생약과 한약재는 제약원료, 수출용 및 投藥用등으로 그 수요가 증가일로에 있다. 더욱이 국산천연자원을 이용한 生藥複合製劑의 개발의욕이 왕성하여 짐에 따라서 이들 천연성 의약품의 品質管理를 위하여서 理化學的試驗法에 의한 規格制定의 필요성이 절실히 요청되고 있다.

그러나 대부분의 천연성의약품의 품질관리는 생약의 형태학적 시험법과 생약일반시험법에 의한 에텔릭스, 묽은 에탄올엑시스 및 水性엑시스와 灰分의 함량등을 규정하고 있으며 그 유효성분이나 주성분이 밝혀져 있어서 理化學的試驗法이나 生物學的試驗法으로 品質管理되어지고 있는것은 일부품목에 지나지 않는 실정이다.

본 연구에서는 이들 생약 및 한약재를 이화학적으로 간편신속히 검정할 수 있는 방법을 시험하므로써 생약

개개의 定性的確認法을 확립하고 나아가서는 生藥複合製劑중에 함유된 각 생약을 檢出試驗할 수 있는 기초자료를 제시하고자 하는데 그 목적이 있다.

재료는 수출생약으로 수요가 많은 품목 약 50종을 1차적으로 선정하여 형태학적으로 정확히 감정하고 植物化學的分類法에 따라서 12개성분군으로 나누워 藥典規定에 준하여 각각 엑키스를 만들어 TLC법으로 함유성분의 검출을 시도하였다.

즉 각성분군에 따라서 특성있는 전개용매를 선정하고 그성분군에 속하는 생약중에 함유된 성분을 추출 분리하여 표준품으로 사용하였다.

그러나 함유성분이 밝혀진 생약은 植物化學的分類法에 따라서 분류한 성분군에 합당하여 TLC-pattern이 유의의하였으나 성분미지의 생약은 植物學的分類法에 의존하였으므로 만족할만한 결과를 얻지 못하였다.

따라서 최적의 TLC-pattern을 얻기위한 각성분군에 따른 전개용매, 증색방법 및 엑키스를 그대로 시료로

하여도 좋은것과 진치리를 반듯이 하여야 하는 것등에 대하여서는 앞으로 더검토되어야 할 것으로 사료된다.

실 험

1. 材料

常用漢藥材 약310종 중에서 統計資料에 의하여 중요 수출품목 약50종을 선정하였다⁶⁾. 서울, 大邱, 全州, 春川 등의 4개지역에서 같은 명칭으로 거래되는 한약재를 수집하여 형태학적으로 감정하고 基源植物이 불분명한 것은 自生品을 채집하여 試料로 하였다^{2,3,4,8,9)}.

2. 엑기스의 製造¹⁾

材料의 粗末을 恒量이 될때까지 건조시켜 試料로 하였다.

가) 에텔엑기스: 시료 5g을 에텔 100ml를 써서 실온에서 때때로 진탕하여주면서 48시간 추출하였다. 추출액을 감압농축하여 적량의 메탄올에 용해시킨 것을 TLC용 에텔엑기스로 하였다.

나) 묽은에탄올엑기스: 시료 5g을 50% 에탄올 100ml를 써서 실온에서 때때로 진탕하여 주면서 48시간 추출하였다. 추출액을 감압농축하여 적량의 메탄올에 용해시킨 것을 TLC용 묽은에탄올엑기스로 하였다.

다) 水性엑기스: 시료 5g을 증류수 100ml을 써서 실온에서 때때로 진탕하여 주면서 48시간 추출하였다. 추출액을 감압농축하여 적량의 메탄올에 용해시킨 것을 TLC용 水性엑기스로 하였다.

3. TLC의 展開 및 同定⁷⁾

Silica gel (Kieselgel G nach stahl)을 常法에 따라서 두께 0.25mm의 薄層을 만들고 105°C에서 30분간 活

性化시켜서 사용하였다.

각 한약재의 에텔엑기스(a), 묽은에탄올엑기스(b) 및 水性엑기스(c)를 一定量의 메탄올에 용해시켜 毛細管으로 직경 3mm 내외로 spotting 하고 각성분군⁸⁾에 따라서 전개액을 調製하여 실온에서 전개시켰다. 原點에서 약 10cm까지 전개되었을때 전개를 중지하고 전개제를 증발시키고 각 성분군에 따라서 특성있는 呈色試藥 또는 呈色方法에 의하여 呈色同定하여 圖示하였다.

4. 標準品

각 성분군의 標準品(s)중 berberine-HCl¹⁰⁾, paeonol¹¹⁾, decursin¹²⁾, rutin¹³⁾, saiko-saponin, β -sitosterol 및 gypsophyla-saponin¹⁴⁾은 생약에서 분리동정하여 사용하였고 anthraquinone, citric acid 및 methyl orange 등은 특수시약을 구입사용하였다.

실 험 성 적

1. Alkaloids

Standard; berberine-HCl(from *Phellodendron amurense*)

1. Sophorae Radix(苦 蓼) *Sophora angustifolia* (Leguminosae)
2. Scopoliae Rhizoma(莨 菪) *Scopolia parviflora* (Solanaceae)
3. Corydalis Tuber(玄胡索) *Corydalis ternata* (Papaveraceae)
4. Phllodendri Cortex(黃 柏) *Phellodendron amurense* (Rutaceae)

Developer A; CHCl₃ : diethyl amine (9 : 1)—CHA—
Developer B; BuOH : H₂O : HAc (5 : 4 : 1)—BHH—
Indicator; U.V.-scanning lamp, J₂, H₂SO₄

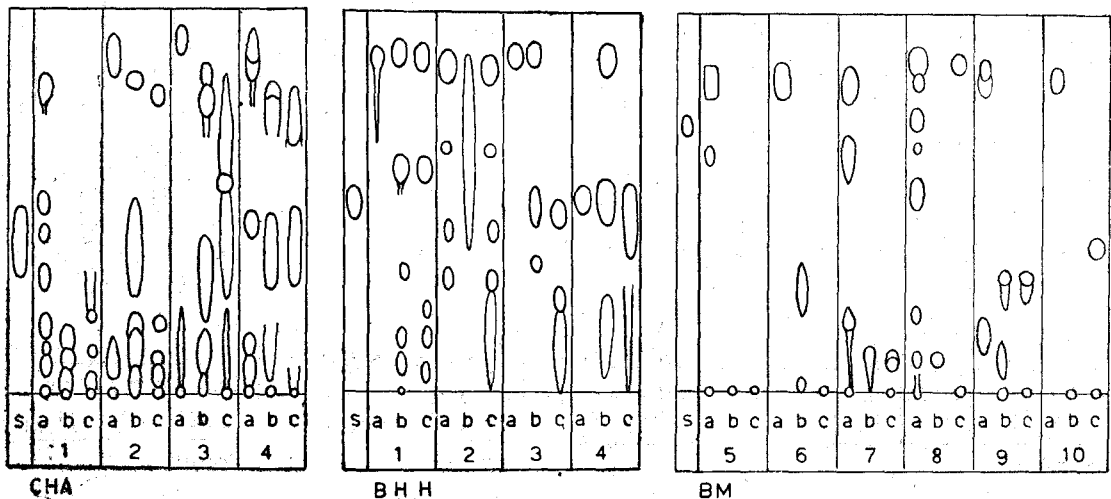


Fig 1. Chromatograms of sample Nos. 1~10.

2. Essential oils

Standard; paeonol (from *Paeonia suffruticosa*)

5. Paeoniae Radix rubra (赤芍藥) *Paeonia albiflora*
(Ranunculaceae)
6. Paeoniae Radix (山芍藥) *Paeonia japonica*
(Ranunculaceae)
7. Atractylidis Rhizoma alba (白朮) *Atractylis lyrata*
(Compositae)
8. Asiasari Radix cum Herba (細辛) *Asiasarum heterotropoides* (Aristolochiaceae)
9. Asteris Radix (紫菀) *Aster tartaricus* (Compositae)
10. Atractylidis Rhizoma (蒼朮) *Atractylis lyrata*
(Compositae)

Developer; benzene: MeOH (95 : 5) — BM —

Indicator; U.V. scanning lamp, J₂

3. Saponins

Standard: saiko-saponin (from *Bupleurum falcatum*)

11. Platycodi Radix (桔梗) *Platycodon graucum*
(Campanulaceae)
12. Codonopsis pilosulae Radix (蔓 蓼) *Codonopsis pilosula* (Campanulaceae)
13. Codonopsis lanceolatae Radix (沙 蓼 A) *Codonopsis lanceolata* (Campanulaceae)
14. Adenophorae Radix (沙 蓼 B) *Adenophora triphylla*
(Campanulaceae)
15. Achyranthis Radix (牛 膝) *Achyranthes japonica*
(Amarantaceae)

16. Bupleuri Radix A (紫 胡) *Bupleurum falcatum*
(Umbelliferae)

17. Bupleuri Radix B (唐紫胡) ?

18. Adenophorae remotiflorae Radix (齊 朮) *Adenophora remotiflora* (Campanulaceae)

Developer; BuOH: H₂O: HAc (5 : 4 : 1) — BuHAc —
Indicator; J₂, H₂SO₄

4. Anthraquinones

Standard: anthraquinone (TAKEDA Chemical Co.)

19. Rhei Rhizoma A (土大黃) *Rheum undulatum*
(Polygonaceae)
20. Rhei Rhizoma B (唐大黃) *Rheum undulatum* (?)
(Polygonaceae)
21. Polygoni Radix (赤何首烏) *Polygonum multiflorum*
(Polygonaceae)

Developer: benzene: ethylacetate (1 : 1) — BEAc —

Indicator: U.V. scanning lamp.

5. Nitrile-glycosides

Standard: paeonolide (from *Paeonia suffruticosa*)

22. Persicae Semen (桃 仁) *Prunus persica* (Rosaceae)
23. Ansu Semen (杏 仁) *Prunus Ansu* (Rosaceae)
24. Prunus nakaii Semen (郁李仁) *Prunus nakaii*
(Rosaceae)

Developer: methanol (99%) — MeOH —

Indicator: H₂SO₄

6. Coumarins

Standard: decursin (from *Angelica gigas*)

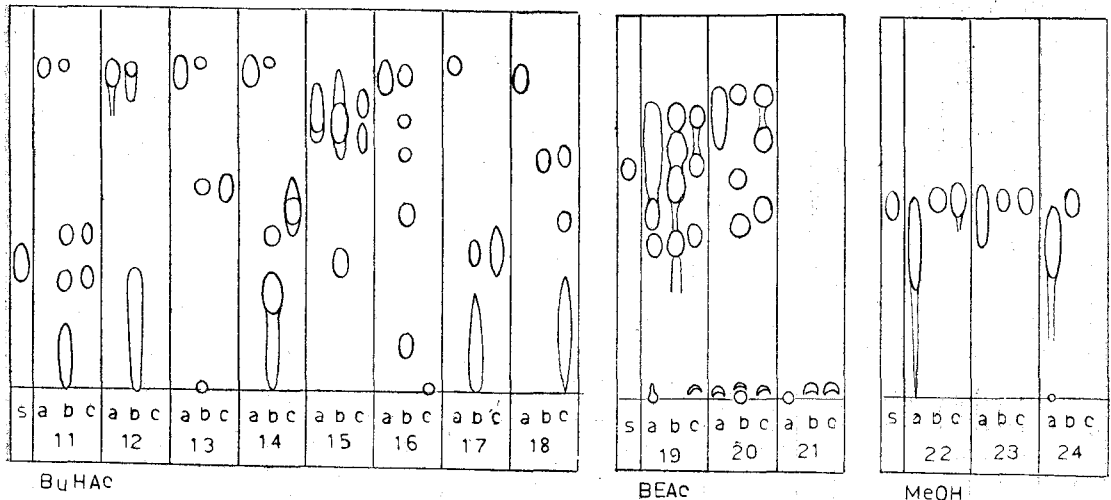


Fig. 2. Chromatograms of sample Nos. 11~24.

25. *Angelica koreanae* Radix (羌活) *Angelica koreana*
(Umbelliferae)
26. *Angelica gigantis* Radix (土當歸) *Angelica gigas*
(Umbelliferae)
27. *Angelica davuricae* Radix (白芷) *Angelica davurica*
(Umbelliferae)
28. *Cnidii Rhizoma A* (土川芎) *Angelica sp.*
(Umbelliferae)
29. *Cnidii Rhizoma B* (日川芎) *Cnidium officinale*
(Umbelliferae)

Developer A; ethylacetate: n-hexane (3 : 1)-HeEAc-
Developer B; CHCl₃-CH₂-
Indicator; U.V. scanning lamp; J₂

7. Steroids

- Standard; β -sitosterol (from *Betula platyphylla*)
30. *Lycii Fructus* (枸杞子) *Lycium chinense* (Solanaceae).
31. Hoelen (茯苓) *Pachyma hoelen* (Polyporaceae)
32. *Lycii Cortex Radicis* (地骨皮) *Lycium chinense*
(Solanaceae)

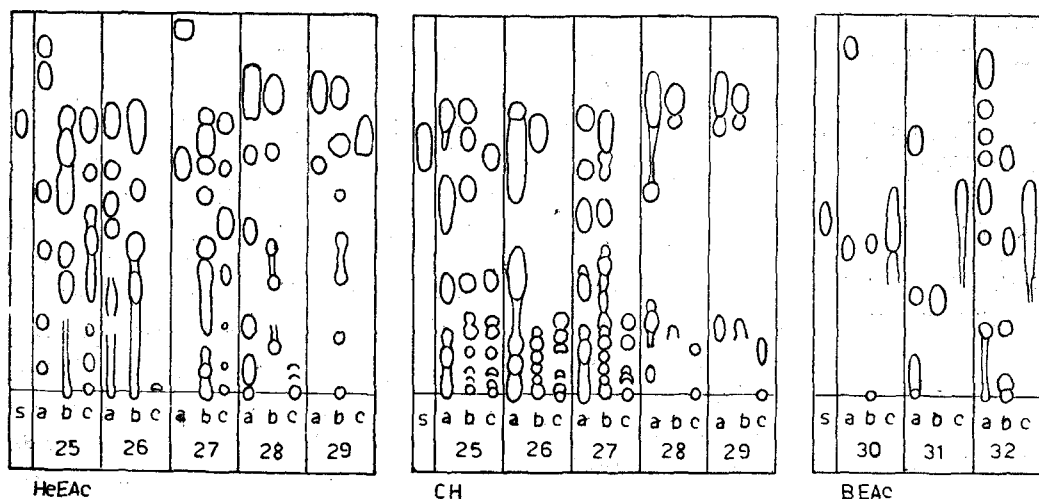


Fig 3. Chromatograms of sample Nos. 25~32.

Developer; benzen: ethylacetate (4 : 1)-BEAc-
Indicator; J₂, H₂SO₄

8. Flavonols and Glycosides

Standard; rutin (from *Sophora japonica*)

33. *Gentiana scabrae* Radix (龍膽) *Gentiana scabra*
(Gentianaceae)
34. *Epimedii Herba* (淫羊藿) *Epimedium koreanum*
(Berberidaceae)

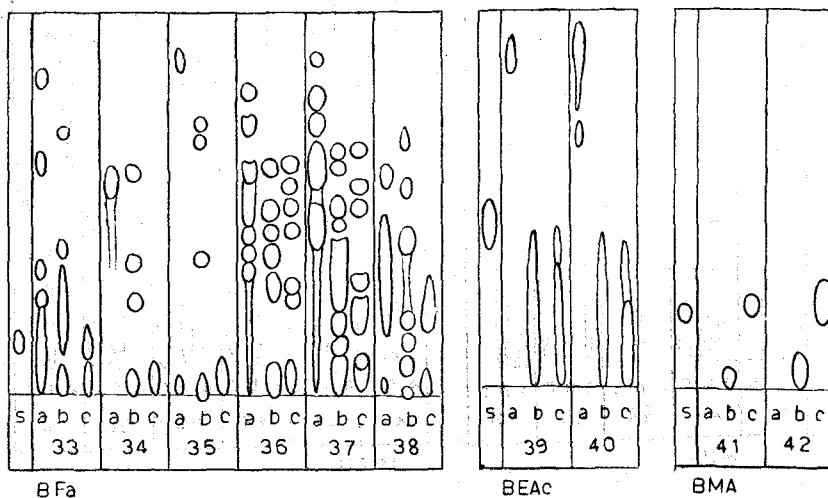


Fig 4. Chromatograms of sample Nos. 33~42.

35. Scrophulariae Radix (玄 蔘) *Scrophularia oldhami*
(Scrophulariaceae)

36. Auranti Pericarpium (陳 皮) *Citrus aurantium*
(Rutaceae)

37. Ponciri Fructus (枳 實) *Poncirus trifoliata*
(Rutaceae)

38. Scutellariae Radix (黃 芩) *Scutellaria baikalensis*
(Labiatae)

Developer; benzene; formic acid: pyridine(36 : 5 : 9)
Indicator; U.V. scanning lamp. H₂SO₄ —BFA—

9. Triterpenoids

Standard; gypsophylla-saponin (from *Gypsophilla paniculata*)

39. Acanthopanax Cortex (五加皮) *Acanthopanax spinosus* (Araliaceae)

40. Araliae Radix (獨 活) *Aralia cordata* (Araliaceae)
Developer; benzene: ethylacetate(4 : 1)—BEAc—
Indicator; J₂, H₂SO₄

10. Organic acid

Standard; citric acid(KANTO Chemical Co. Japan)

41. Corni Fructus (山茱萸) *Cornus officinalis*
(Cornaceae)

42. Schizandrae Fructus(五味子) *Schizandra chinensis*
(Magnoliaceae)

Developer; benzene: MeOH: acetic acid (8 : 1 : 1)
—BMA—

Indicator; bromophenol blue.

11. Plant pigments

Standard; methyl orange(TAKEDA Chemical Co.)

43. Lonicerae Flos (忍冬花) *Lonicera japonica*
(Caprifoliaceae)

44. Equiseti majoris Herba(木 賊) *Equisetum hiemale*
(Equisetaceae)

45. Lithospermae Radix(紫 根) *Lithospermum erythro-
rhizon*(Borraginaceae)

46. Scutellariae Radix (黃 芩) *Scutellaria baikalensis*
(Labiatae)

Developer; methanol—MeOH—

Indicator; U.V. scanning lamp, H₂SO₄

12. Others

47. Pinelliae Tuber (半 夏) *Pinellia ternata* (Araceae)

48. Sciripi Tuber(三 稜) *Scirpus maritimus*(Cyperaceae)

49. Cimicifugae Rhizoma(升 麻) *Cimicifuga herac-
leifolia* (Ranunculaceae)

50. Coicis Semen(薏苡仁) *Coix Lachryma-Jobi*
(Gramineae)

51. Trichosanthis Radix(天花粉) *Trichosanthes
kirilowii* (Cucurbitaceae)

52. Alismatis Rhizoma(澤 瀉) *Alisma plantago*
(Alismataceae)

Developer; methanol —MeOH—

Indicator; U.V. scanning lamp, J₂

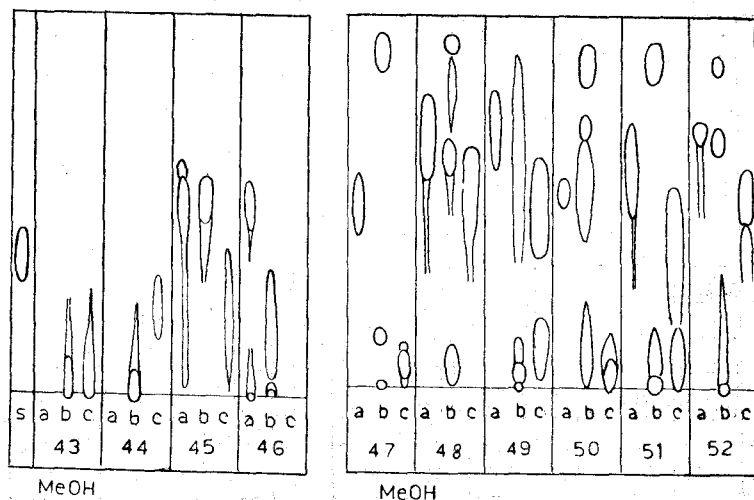


Fig 5. Chromatograms of sample Nos. 43~52.

고찰 및 결론

중요수출생약 약 50종을 서울, 大邱, 全州, 春川등지에서 각각 동일명칭으로 거래되는 것을 수집하였다.

수집된 생약을 형태학적으로 정확히 감정하고 植物化學的分類法에 따라서 12개 성분군으로 나누워 各藥典規定에 준하여 에텔엑시스(a), 묽은에탄올엑시스(b) 및 水性엑시스(c)을 만드려 각성분군에 따라서 특성있는 전개용매를 사용하여 실온에서 전개하고, 각각 특성있는 정색법에 따라 정색하여 생약에 따라서 고유성 있는 TLC-pattern 을 얻었다.

알카로이드생약 은 2종 전개용매에 있어서 苦蓼, 莨菪, 玄胡索은 각엑시스의 pattern 에 특성이 있으나 黃柏皮는 묽은알콜엑시스와 水性엑시스에서 별차이점이 없다. 경유생약에 있어서는 에텔엑시스에서만이 차이가 있으나 山芍藥과 紫菀은 비슷한 결과를 얻었으므로 전개용매의 개검토가 필요하다. 사포닌생약중 沙蔘(A), 沙蔘(B) 및 齊菴는 *Codonopsis* 속과 *Adenophora* 속간에 함유성분에 차이가 있는 것인지 또는 시료에 기인한것인가는 재검토 되어야할 것이며 唐紫胡는 그 기원식물을 밝히지 못하였다. 안트라퀴논생약중 國産大黃은 *Rheum unduratum* 을 기원식물로 하고 있는데 상품품이 다르고 TLC pattern 이 약간 다르다. 이를 생약의 조제시 그 함유성분이 변화된 것이 아닌가 사료된다. 한편 赤何首烏는 free-anthraquinone 유도체의 함량이 극히 적음을 알 수 있다. 청산매당채 생약은 유의성이 없었다.

쿠마린생약의 羌活, 土當의 및 白芷등은 외부형태가 비슷하여 구별하기 곤란하지만 각각 특이한 TLC-pattern 을 나타냄으로 본방법에 의한 정성적확인이 가장 유효한 방법이라고 사료된다. 한편 土川芎은 기원식물을 밝히지 못하였다. 스테로이드생약은 β -sitosterol 을 표준품으로 사용하였으나 각 생약에 따라서 특성있는 pattern 을 얻었다. 후라보놀과 배당채생약은 그함유성분이 화학적으로 다르나 성분자체가 황색이므로 확인이 용이하였으며 역시 유의의하였다. 텔페노이드생약은 같은 과의 식물로서 에텔엑시스는 유의의하나 묽은 에탄올엑시스와 수성 엑시스에서는 비슷하였다. 유기산을 함유한생약은 본 시험에서는 결과의 유의의성이 없으며 재검토 하여야 될것이다. 식물색소류는 忍冬花 및 木賊은 에텔엑시스가 거이 없으며 黃芩은 대부분이 에텔엑시스 및 묽은에탄올엑시스이며 수성엑시스는 거이

나타나지 않았다. 기타 생약에 있어서는 다량이 전분을 함유한 것이 많으나 유의의한 TLC-pattern 을 얻었다.

따라서 이 방법을 응용하면 생약이 原形이 아닌 粉末 또는 浸出液인 검체라도 理化學的으로 定性確認할 수 있다.

한편 대부분의 생약이 藥典規定의 生藥試驗法중 엑시스 함량시험용검체를 전처리 하지 않고도 이 방법을 적용하여 변형시험할 수 있는 장점이 있다.

그러므로 생약의 감별시험을 형태학적 감정시험에 의존하던 것을 지양할 수 있으며 극히 소량의 시료로서도 간편 신속 정확한 品質管理를 할 수 있고 나아가서는 생약복합제중에 함유된 각개 생약을 정성적으로 검정할 수 있는 가능성을 개발하는데 있어서 그 기초적인 실험자료를 제시하였으나 앞으로 더 검토되어야 할 것이다.

본 연구를 하는데 있어서 모든 편의를 제공하여 주신 서울대학교 생약연구소 소장 禹麟根교수님, 국립보건연구원 약품부장 沈應基연구관 및 생약연구담당관 白德禹연구관께 감사하며 실험에 조력하여준 숙명여자대학교 약학대학 吳聖愛, 崔永心양께 사의를 표하는 바이다.

(1972. 12. 1 접수)

문헌

- 1) 보건사회부: 대한약전
- 2) 李, 李: 生藥學, 東明社 (1971)
- 3) 林: 藥用植物學各論, 東明社 (1970)
- 4) 鄭: 韓國植物圖鑑 上, 下, 新志社 (1960)
- 5) 韓國醫藥品輸出入協會: 醫藥品輸出入實績表(1971)
- 6) 禹麟根등: 漢藥規格에 관한 研究(1968)
- 7) 石川등: 薄層크로마토그래피, 南山堂 (1969)
- 8) 유, 육등: 한국생약학회지 2, 125 (1971)
- 9) T.SWAIN: *Chemical Plant Taxonomy*, Academic Press N.Y. (1963)
- 10) 松本: 日化誌, 2, 116 (1881)
- 11) MARTIN U.YAGI: *Arch. Pharm.* 213 335 (1878)
- 12) 池: 韓藥誌, 8, 94 (1964); 11, 36, 39 (1967); 13, 47 (1966)
- 13) W. STEIN: *J. Prak. Chem.* 58, 399 (1853)
- 14) 九谷, 禹: 日藥誌, 64, 18 (1944)