

생약복방 드링크제 중 계피성분의 확인 및 계피산의 분리정량

고성룡 · 김나미 · 전병선 · 최강주

한국인삼연초연구소
(1991년 2월 25일 접수)

Identification of Cinnamon Components and Quantitative Determination of Cinnamic Acid from Crude Drug Drink Preparations

Sung Ryong Ko, Na Mi Kim, Byeong Seon Jeon and Kang Ju Choi

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejeon 305-345, Korea

(Received February 25, 1991)

Abstract□For the quality control of crude drug drink preparations, methods for identification of cinnamon components and quantitative determination of cinnamic acid were established. Cinnamon components were identified by TLC with benzene/ethyl acetate (1:1, v/v) on silica gel plate by spraying *p*-anisaldehyde-sulfuric acid. Cinnamic acid contents were determined at UV 280 nm by HPLC on μ -Bondapak C₁₈ column with acetonitrile/water/acetic acid (40:60:2, v/v). Recoveries of cinnamic acid in three crude drug drink preparations were between 84.1-90.2% compared to the content of the cinnamon extract.

Keywords□*Cinnamomi cassia cortex*, *Lauraceae*, cinnamic acid, crude drug preparation, TLC, HPLC

서 론

계피(*Cinnamomi cassia Cortex*)¹⁾는 계피나무(*Cinnamomum cassia* Blume)의 껍질을 건조시킨 것으로 한방에서 여러 약재와 배합하여 중요한 약재로 사용되어 왔으며, 계피의 특이성분으로는 cinnamic aldehyde, cinnamic acid, cinnamyl alcohol, eugenol, cinnamyl acetate 등 30여종의 성분^{1,2)}이 단리 보고 되었으며 주성분인 cinnamyl aldehyde³⁾는 진정, 체온강하, 해열, 말초혈관확장, 심장수축력 증강, 소화관운동억제 등 여러 작용을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

한편 식품학적으로 볼 때 특이한 맛과 향을 내는 교미(矯味), 교취(矯臭)의 목적으로 식품에 널리 사용되어온 향신료의 일종이다. 이와 같이 독특한 향미와 그 효능 때문에 최근에는 계피차와 같은 차류와 생약복방제 타입의 건강음료나 의약품드링크 등 많은

신제품이 개발되고 있다. 한편 생약복방제 의약품의 유효지표성분에 대한 품질관리는 주로 TLC 확인방법과 HPLC 정량방법이 통용되고 있다.^{4,5)} 그러나 생약복방제 중 계피 지표성분에 대한 확인방법이나 정량방법⁶⁾은 연구보고가 적은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생약복방제에 대한 품질관리연구의 일환으로 홍삼 엑스가 다량 함유된 생약복방 드링크제 중 계피성분에 대한 TLC 확인방법과 HPLC 정량방법을 설정하고 계피산(cinnamic acid)의 함량을 HPLC로 분석하여 원료용 계피 엑스로부터 생약복방 드링크제 중의 이행량을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 원료용 인삼 및 생약재료

진보^{6,7)}에서 사용된 원료 홍삼, 대추, 건강, 계피, 구기사 및 유양곽(浮羊藿)을 각각 생약제 엑스의 제

Table 1. Contents* of the crude drug extracts in three drink preparations

Crude drug	Preparation		
	A	C	E
Panax ginseng(홍삼)	1593.6	1195.2	796.8
Zizyphi fructus(대추)	350.6	350.6	350.6
Zingiberis rhizoma(건강)	64.0	34.6	34.6
Cinnamomi cortex(계피)	17.5	9.1	9.1
Lycii fructus(구기자)	36.0	36.0	36.0
Epimedi herba(음양곽)	8.9	8.9	8.9
Sugars(fru. & glu. syrup)	8100	8100	8100
Others (Additives)	S.A.**	S.A.**	S.A.**
Water	30 ml	30 ml	30 ml

*Extract content (mg) in one bottle (30 ml)

**Small amount

료로 사용하였다.

2. 시 약

계피산(cinnamic acid) 표준품은 일본 和光純藥工業株式會社の 특급 계피산(035-03412)을 표준품으로 사용하였다. HPLC 분석용매인 아세토니트릴, 초산, 증류수는 E. Merck 회사의 HPLC용 용매를 사용하였고, 계피성분의 추출용매와 전개용매는 일급시약용, TLC plate는 silica gel 60 precoated aluminum sheet (E. Merck Co., layer thickness 0.2 mm)을 사용하였다.

3. 생약복방 드링크제 제조

전보^{6,7)}에서와 같이 인삼 및 생약재 각각의 추출 엑스를 원료로 하여 제조된 생약복방 드링크제를 시료로 사용하였다. 즉 생약복방 드링크제 제조는 홍삼, 대추, 건강, 계피, 구기자 및 음양곽의 물 추출 엑스를 기호도나 경제성을 고려하여 이들 엑스의 배합량을 달리하여 Table 1과 같은 조성비율로 배합하여 생약복방 드링크제 A, C 및 E를 제조한 다음 분석용 시료로 사용하였다.

4. 계피성분의 TLC 확인

계피성분의 확인은 계피 특이¹⁻³⁾의 정유성분 및 주된 성분들이 지용성 성분인 점을 고려하여 다음과 같이 지용성 분획을 추출 분리하여 TLC로 확인하였다. 즉 생약복방 드링크제 1병(30 ml) 식을 취하여 분획여두에 넣고 에틸 에테르 50 ml로 추출한 다음 그 수층을 다시 에틸 에테르 30 ml로 추출하여 합하고 에틸 에테르 추출액을 증류수 30 ml로 진탕시켜 세척하였다. 에틸 에테르 추출분획은 소량의 sodium sulfate로 탈수시킨 후 감압농축하고 1 ml의 에틸 에

테르에 용해하여 TLC 검액으로 하였다. 한편 엑스는 본 실험에 사용된 드링크 1병(30 ml)에 함유된 양의 계피 엑스에 상응하는 양을 각각 취하여 물 엑스를 만든 다음 각각 물 30 ml에 용해시켜 상기와 동일한 방법으로 에틸 에테르 추출분획을 분리하여 TLC 검액으로 하였다. 계피성분의 확인은 실리카 겔 판에 벤젠/초산 에칠(4 : 1, v/v)로 전개시킨 다음 *p*-아니스알데히드 황산시액을 분무 가운시켜 발색 후 확인하였다.

5. 계피산의 HPLC 정량

본 실험에 사용된 드링크 시제품 중 계피 지표성분의 정량은 계피의 특이성분인 동시에 주요성분으로 통용되고 있는 계피산을 지표성분으로 정량하였다. 정량방법은 드링크 1병(30 ml)을 에틸 에테르 60 ml로 진탕 추출하여 분획하고 그 수층을 다시 에틸 에테르 30 ml로 추출하여 합한 다음 에틸 에테르 추출액을 합하여 물 30 ml로 세척하고 에틸 에테르 추출액을 감압 농축시킨 후 메탄올 10 ml에 용해시켜 HPLC 분석용 검액으로 하였다. 이 때 사용한 HPLC는 Waters Associates Model 244를, column은 μ -Bondapak C₁₈을, 검출은 UV 280 nm를, 이동상은 아세토니트릴/물/초산(40 : 60 : 2, v/v)을 각각 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 계피성분의 확인

본 실험에서 제조한 생약복방 드링크제 중 계피성분의 TLC에 의한 확인시험 결과는 Fig. 1과 같다. 즉 계피, 계피엑스 및 생약복방 드링크제를 각각 동일한 방법으로 처리하여 에틸 에테르 추출분획물에서 계피 지표성분으로 먼저 계피산을 자외선 등(UV 254 nm)로 동정하였으나 R_f 0.42에서 검출되는 계피산은 계피엑스나 생약복방제 중에서 선택적으로 검출 동정할 수 없었다. 그러나 *p*-아니스알데히드 황산시액을 분무하여 가운 발색시킨 TLC 패턴에서는 계피 특이의 스포트로 R_f 0.09에서 분홍색, R_f 0.12에서 미청색, R_f 0.46에서 미적색, R_f 0.63에서 미청자색의 스포트를 각각 확인할 수 있었으며 이들 특이의 스포트는 원료용 계피엑스와 생약복방 드링크제에서도 확인할 수 있었다. 또한 별도로 수행한 드링크제 C와 E의 TLC 패턴에서도 이와 같은 결과를 관찰할 수 있었다. 따

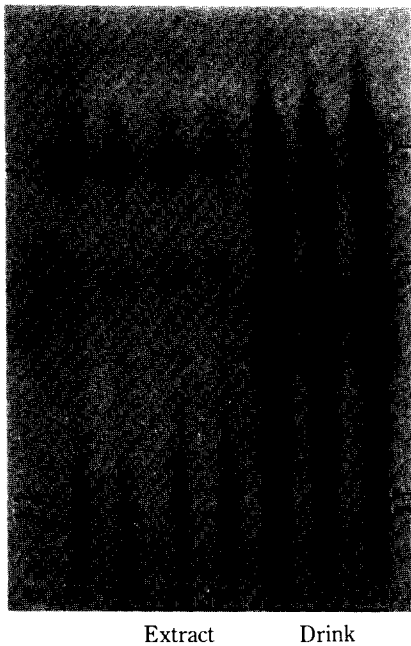


Fig. 1. Thin layer chromatograms of ethyl ether fractions of the Cinnamon extract and the crude drug drink preparations.

*Developed with benzene/ethyl acetate (1:1, v/v) on silica gel 60 plate and detected with *p*-anisaldehyde/sulfuric acid.

**CA: cinnamic acid, CM: cinnamomi cortex, Extract:cinnamomi cortex extract, Drink: crude drug drink preparations.

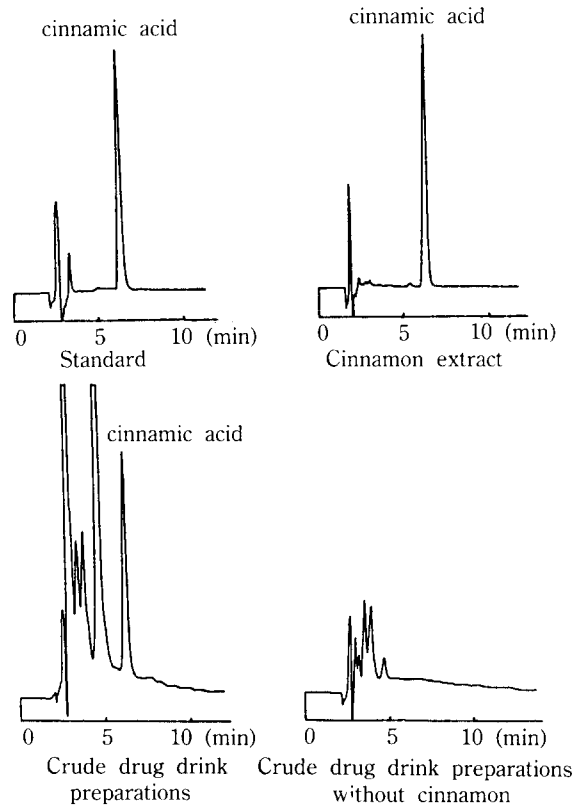


Fig. 3. HPLC patterns of cinnamic acid and ethyl ether fractions extracted from the cinnamon extract and the crude drug drink preparations.

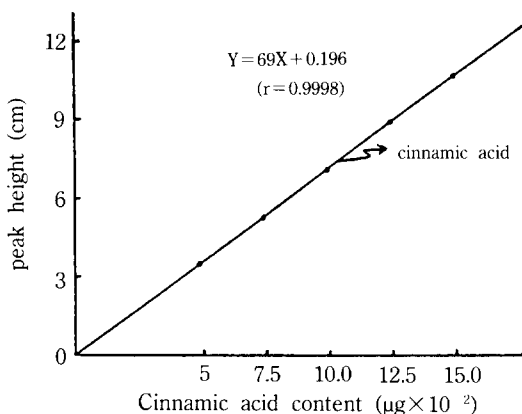


Fig. 2. Calibration curve of cinnamic and by HPLC.

라서 이들 3가지 종류의 생약복방 드링크제 시제품에 대한 TLC 패턴 조사결과 계피 특이의 지표성분들을 확인할 수 있었다.

2. 계피산의 정량 및 이행량 조사

본 실험에서 사용한 HPLC 분석조건으로 얻은 계피산 표준품의 크로마토그램은 Fig. 3과 같고, 계피산 표준품의 피크높이로서 작성된 검량선은 Fig. 2와 같다. 이 검량선의 회귀방정식은 $Y = 69X + 0.196$ 이었으며, 직선성을 검정한 결과 그 상관계수가 $r = 0.9998$ 로서 1.0에 접근하여 계피산의 중량과 피크 높이간에 직선성이 인정되었다.

계피 지표성분의 정량은 본 시제품 3종류 드링크 1병(30 ml) 중에 함유된 상당량의 계피 엑스량 중의 계피산 함량과 드링크 1병 중의 계피산 함량을 각각 3 lot×3 반복으로 분석하여 제조과정에 따른 이행량을 조사하였다. 계피의 성분으로는 함량 및 효능면에서 cinnamic aldehyde^{1,3)}가 주된 성분으로 보고되었으나 생약복방제 탕액 제조시 분해되어 감소율이 매우 크다⁸⁾고 보고되었을 뿐 아니라 생약복방제의 약품의 품질관리 업무를 관장하고 있는 국립보건원의 생약시험방법집¹¹⁾에도 cinnamic aldehyde는 정량하

Table 2. Contents of cinnamic acid of the cinnamon extracts and the crude drug drink preparations (Unit: mg)

Lot No.	Sample	A		C		E	
		Extract*	Drink**	Extract*	Drink**	Extract*	Drink**
Lot A	1	0.194	0.178	0.113	0.097	0.112	0.095
	2	0.193	0.175	0.114	0.095	0.110	0.098
	3	0.198	0.173	0.111	0.094	0.111	0.099
	Average	0.195	0.175	0.113	0.095	0.111	0.097
Lot B	1	0.194	0.168	0.106	0.090	0.108	0.093
	2	0.189	0.169	0.104	0.094	0.106	0.092
	3	0.192	0.165	0.103	0.091	0.106	0.093
	Average	0.192	0.167	0.104	0.092	0.106	0.093
Lot C	1	0.189	0.166	0.107	0.090	0.101	0.092
	2	0.191	0.164	0.106	0.093	0.104	0.091
	3	0.188	0.163	0.110	0.095	0.102	0.093
	Average	0.189	0.164	0.108	0.093	0.102	0.092

*The amounts of cinnamon extracts of A, C and E are 17.5 mg, 9.1 mg and 9.1 mg, respectively, which correspond to the amounts in three drinks.

**mg content in one bottle (30 ml) of the crude drug drink preparations

지 않고 계피산을 정량하는 것으로 되어 있다. 또한 본 실험에서 원료로 사용된 계피 물엑스의 HPLC 패턴에서도 cinnamic aldehyde는 거의 검출되지 않아 계피산을 정량하였다. 본 실험에서 사용한 HPLC 분석조건은 Fig. 3의 HPLC 패턴에서 보는 바와 같이 계피산의 분리정량에 적합한 조건이었으며 시제품 드링크의 분석에도 적합하였다. 또한 드링크 제품 중 계피 엑스를 제외하고 5종 엑스와 당류 및 첨가물만을 동일하게 배합하여 제조한 대조구 드링크의 경우는 HPLC 패턴에서 볼 수 있듯이 계피산과 겹치는 피크가 검출되지 않아서 생약복방제 중 계피산을 계피의 지표성분으로 선정하여 원료용 계피 엑스로부터 생약복방 드링크제 중의 이행율을 조사하였다.

본 실험에서 제조한 3종류 생약복방 드링크제 시제품의 계피산 분석결과는 Table 2와 같고 원료용 계피 엑스로부터 최종 드링크 제품 중의 계피산 평균 이행율은 84.0-90.2%로 3종류 드링크 제품 중 계피산의 이행율은 대체로 유사하였으며 전보^{6,7)}에서 조사한 홍삼성분의 ginsenoside-Rb₁이나 건강성분의 6-gingerol에 비하여 이행율이 높음을 알 수 있었다. 한편 드링크 제품별로 볼 때 A는 86.7-89.7%, C는 84.0-88.4%, E는 87.2-90.2%로 C의 이행율이 가장 낮고

E의 이행율이 가장 높았다. 이와 같이 이행율이 다소 차이를 보인 것은 Table 1에서와 같이 C는 드링크 1병(30 ml)에 함유된 6종의 총 엑스량 대비 계피 엑스의 배합량이 가장 적어서 계피산의 이행율이 가장 낮은 것으로 고찰되었고, E는 드링크 1병(30 ml)에 함유된 6종의 총 엑스 배합량이 가장 적어서 드링크액 제조시 원심분리 등의 과정에서 침전물에 흡착 제거되는 양이 적어 계피산의 이행율이 다소 높은 것으로 시사 되어진다.

생약복방제 중 지표성분의 이행량이나 이행율의 감소 원인에 대해서는 휘산, 소장(消長), 분해, 산화, 제3물질의 생성 및 침전물 제거과정 등 여러 가지 요인⁶⁻¹⁰⁾에 의해서 감소될 수 있다고 보고되고 있다. 그러나 본 실험에서 제조된 생약복방제 드링크는 일본 후생성에 신제품 등록을 위하여 일본 의약품 제조지침⁵⁾에 준하여 각각의 생약재 추출물을 미리 제조한 다음 배합하여 드링크를 제조하였다. 즉 각각의 생약재 물엑스를 미리 제조하여 비율대로 배합하고 감미제와 첨가물을 가한 후 일정량의 물에 용해시킨 다음 9.220 Xg로 원심분리하여 침전물을 제거하고 제조하였다. 따라서 생약재 엑스들의 배합비율이나 배합량에 따라 생약성분들의 용해성이나 물성 등 여러 요인에 의해서

드링크 제조과정 중 원심분리^{6,10)}에 의한 침전물의 제거과정에서 원심분리 침전물에 흡착 혼합되어 제거되는 것이 주된 감소원인임을 알 수 있었다.

일반적으로 드링크 제품의 침전물에 대해서는 국·내외 해당 품질검사기관에서도 엄격히 규제를 할 뿐만 아니라 소비자들도 기피하고 있는 실정이다. 그러므로 생약복방제 드링크 제조공정에서는 침전물을 완벽하게 제거하기 위하여 고속 원심분리나 미세 여과장치를 사용하여 반복 정제과정을 거치게 되는데 이 과정에서 침전물이 상당량 제거되고 일부 유효지표성분도 제거되는 것을 관찰할 수 있었다. 전보^{6,7)}에서 생약복방제 드링크 중 인삼의 ginsenoside-Rb₁ 및 건강의 6-gingerol 성분의 이행량 감소와 본 실험에서 계피산의 이행량 감소원인에 대해서는 그 후 저자 등이 별도로 수행한 참고시험 결과 침전 잔유물에서 이들 성분이 검출됨을 확인할 수 있었다. 그러므로 생약복방제 드링크의 경우 생약성분에 의한 침전물 생성에 관해서는 품질검사기관이나 소비자측에서도 어느 정도 인정을 해줌으로써 최종 제품 중의 유효성분 이행량을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다. 아울러 생약복방제 드링크 제품의 침전물 생성 방지를 위하여 침전물 생성 방지제 등에 대해서도 많은 연구가 수행되어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

생약복방 드링크제의 품질관리 연구 일환으로 계피성분을 TLC로 확인하고 계피산을 HPLC로 정량하였다. 계피성분의 TLC 확인은 에틸 에테르 추출

분획 농축물을 실리카 겔 판에 벤젠/초산 에칠(1:1, v/v)로 전개시킨 후 *p*-아니스알데히드 황산시액을 분무 가운시켜 대조 동정하였다. HPLC에 의한 정량은 μ -Bondapak C₁₈ column에 아세토니트릴/물/초산(40:60:2, v/v)을 이동상으로 하여 계피산을 UV 280 nm에서 검출 정량하였다. 원료용 계피 엑스로부터 3가지 종류의 생약복방 드링크제 중 계피산의 평균 이행율은 84.1-90.2%로 비교적 높았다.

인용문헌

1. 한덕봉 : 현대생약학(개정판), 한국학습교재사, 서울, p.86-89(1985).
2. Haginiwa *et al.* : *Yakugaku Zasshi*, **82**, 1441(1962).
3. 자전승이 : 약용천연물질, 남산당, 동경, p.254(1982).
4. 국립보건원 : 생약시험방법집(국립보건원 예규 제 283호), 국립보건원, 서울(1986).
5. 일본공정시험회 : 약약품 제조지침(제 2장, 약품의 제조승인), 약업시보사, 동경(1987).
6. 최강주, 고성룡, 김나미, 성현순 : *고려인삼학회지*, **14**(2), 112(1990).
7. 고성룡, 최강주, 김석창, 김나미 : *고려인삼학회지*, **14**(3), 442(1990).
8. 유경수, 송보환 : *생약학회지*, **11**(2), 75(1980).
9. Kano, Y., Saito, K., Sakuri, T. : *Shoyakugaku Zasshi*, **40**(3), 333(1986).
10. 성현순, 서기봉, 양재원 : 인삼연구보고서(새봄분야발책), p.84(1988).
11. 국립보건원 : 생약시험방법집(국립보건원 예규 제 283호), 국립보건원, 서울(1986).