

枳實에 함유된 Flavonoid 성분의 분석

黃 貴 緒

暎園大學校 韓醫科大學

Analytical study on the flavonoid of *Poncirus trifoliata*

Gwi Seo Hwang

College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Abstract: It is well known that *Poncirus trifoliata* harmonizes the Stomach, dissipates the Nodules of Liver, and manages Vitality. This herb has been used for stomachache, vomiting, nausea, abdominal distension, and swelling of testis in the Oriental Medicine. A major components of *Poncirus trifoliata* consist of a various flavonoids such as poncirin, naringin, hesperidin, neohesperidin, rhoifolin, poncimarin, poncitrin. Generally, pharmacological activities of an oriental medicinal drug may be different due to diverse origin, harvest season, and storage period. In this study, we aimed to measure the contents of poncirin and naringin, major flavonoid of this herb, to determine the quality of *Poncirus trifoliata*.

I. 서 론

枳實은 藝香科(굴과 Rutaceae)에 속한 落葉小喬木인 탕자 나무의 익지않은 열매를 그대로 또는 반으로 자르고 건조시킨 것이며,³⁾ 중국에서는 酸橙(오렌지 일종)의 미숙과를 사용한다.^{1,2)} 예로부터 疎肝, 和胃, 理氣 작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 胃痛, 癉丸腫脹, 子宮下垂, 酒毒解消 등의 목적으로 사용되었다. 지실의 주성분으로는 flavonoid glycoside계의 다양한 물질이 함유되어 있다는 것이 밝혀졌다.^{4,5)} 최근 연구에 의하면, 지실의 추출물은 자궁수축작용, 소화기계 억제작용, 항allergy작용이 있는 것으로 보고되었다.⁷⁾ 또한, 지실 추출물은 저용량에서 심장기능을 항진시키며, 고용량에서 심장기능을 억제하는 것으로 알려져 있으며, 뇌혈관, 신혈관, 심혈관의 혈류속도를 상승시킨다는 보고가 있다. 지실의 flavonoid 성분인 naringin은 항혈소판작용, poncirin은 항혈소판작용 및 장내세균 억제작용이 있다고 보고되었다.⁸⁾ 한약재는 산지, 채취시기, 저장과정 등에 따라 균일한 품질을 유지하기 어려운 특성이 있다. 유통되는 한약재가 일정한 유효성과 안전성이 확보되도록 하기 위해서는, 한약재의 품질을 검증하여 유효물질이 일정수준 이상 함유되도록 할 필요성이 있다. 본 연구에서는 지실의 품질표준화작업과 유효성분 평

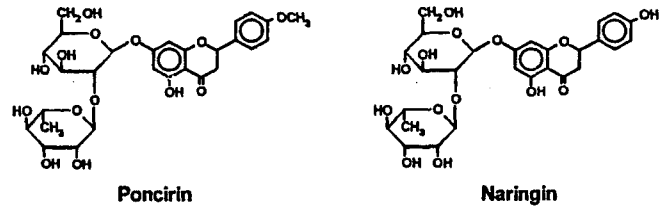


Fig. 1. Chemical structures of poncirin and naringin.

가 및 검정에 활용할 목적으로 지실의 주성분인 poncirin과 naringin을 지표성분으로 선정하여 함량분석을 시도하였으며, 효과적인 분리를 위해 HPLC를 사용하였다.

II. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

실험용 생약(한약재)은 서울 경동시장의 한약유통업체 및 한의원과 지역적으로 다양하게 분포한 약국에서 구입하여 사용하였으며, 자세한 내용은 아래에 표시하였다.

- A: 용성건재약업사(경동시장)
- B: 제성약업사(경동시장)
- C: 충신약업사(경동시장)
- D: 우성생약(경동시장)
- E: 동인당한의원(경동시장)

*본 논문은 1996년도 보건복지부 한약재(생약)품질표준화연구사업의 연구비지원으로 수행된 연구결과의 일부임.

- F: 성일당약국(경동시장)
- G: 재활약국(서울 신대방동)
- H: 대우당약국(서울 신림동)
- I: 연일약국(서울 신길동)
- J: 대학당약국(서울 신림동)
- K: 성대약국(서울 상도동)
- L: 부산약국(서울 상도동)
- M: 늘푸른약국(경기도 수원)
- N: 은누리평화(서울 사당동)
- O: 장수약국(서울 신길동)
- P: 부흥약국(경기도 안양)
- Q: 새현대약국(서울 제기동)
- R: 현민약국(서울 대방동)

2. 확인시험

1) 성상

지실은 거의 구형이고 지름은 1~2 cm 정도의 크기이다. 바깥면은 진한 갈색-갈색을 띠며, 거칠고 유실(油室)에 의한 오목한 작은 점이 많다. 횡단면의 표피쪽은 황갈색이고 안쪽은 옅은 회갈색을 띠고 중심부에는 방사상으로 8~16개의 작은 방으로 되어 있고 각 방은 말라서 황갈색을 띠며 오목하게 들어가고 간혹 털 익은 씨가 들어 있다. 이 약은 특이한 방향이 있고 맛은 쓰다.

2) 발색확인시험

지실 가루 0.5 g에 메탄올 10 ml를 넣어 2분간 조용히 끓이고 여과하였다. 여액 5 ml에 마그네슘가루 0.1 g 및 염산 1 ml를 넣어 방치할 때 반응액이 적자색을 나타내는 경우 적합하다고 판정하였다.

3) 회분 정량

대한약전의 회분측정법에 따라, 미리 사기제 도가니를 500~550°C에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 분말로 만든 지실 검체 약 2 g을 취하여 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달고 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온도를 올려 500~550°C에서 4시간 이상 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하였다. 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달아 회분량(%)으로 하였다. 이 방법으로 탄화물이 남아 향량이 되지 않을 경우에는 에탄올 소량을 넣어 적시고 유리 막대로 탄화물을 부수고 소량의 에탄올로 유리 막대를 씻어 에탄올을 조심하여 증발시킨 다음, 앞에서와 같은 방법으로 조작한 후, 무게를 측정하였다.

4) 산불용성회분정량

회분에 묶은 염산 25 ml를 조심하여 넣고 5분간 조용히 끓

여 불용물을 정량용 여과지를 써서 여과하여 취하고 열탕으로 잘 씻어 잔류물을 여과지와 함께 건조한 다음 회분의 향과 같은 조작으로 무게를 미리 단 사기제 도가니에서 3시간 강열하여 실리카겔 데시케이터에서 방냉한 다음 그 무게를 정밀히 달아 산 불용성 회분량(%)으로 하였다.

3. 지실중의 Poncirin, Naringin 정량

1) 재료분쇄

위에서 기술한 지실을 실험에 사용하기 위하여, 분쇄기를 이용하여 가루로 만들었다. 데시케이터에 하루 이상 방치한 후 사용하였다.

2) 지실 검액의 제조

지실 분말 100 mg을 정밀히 달아 취한 후, 70% 에탄올 수용액 20 ml를 가한 후, 4시간 동안 환류 추출하였다. 격렬하게 흔들여 섞은 후 냉각시킨 다음 정량용 여과지(Alltech Nylon 66 mesh)를 사용하여 여과하였다. 여과한 여액 10 μ l를 취하여 HPLC를 시행하였다.

3) 표준액 제조

Poncirin 표준액 20 mg을 정확히 달아 70% EtOH 10 ml에 녹인 후 지실 검액 제조시와 같은 방법으로 여과하고 일정한 비율로 희석하였다. 이 중 10 μ l를 취하여 HPLC를 행하고 얻어진 각 peak 면적을 이용하여 검량선을 작성하였다.

4) HPLC에 의한 정량법

최초 시작시 MeOH/H₂O(30/70) 용매 조건으로 시작하여 20분 동안에는 매분마다 MeOH를 1%씩 증가시켰으며(최종농도비 50/50), 그 다음 30분까지는 MeOH를 매분마다 2%씩 증가시켰다(최종농도비 70/30). 다시 40분까지는 MeOH를 매분마다 3%씩 증가시켰으며(최종농도비 100/0), 이후 계속하여 50분까지 지속시켰다.

III. 실험 결과

1. 성상 및 회분, 산불용성회분 정량

지실의 성상은 녹색으로부터 갈색, 진갈색, 흑갈색까지 다양하였으며, 신선한 것일수록 녹색을 띠고 있었다. 크기도 직경 3~4 mm의 어린 지실로부터 직경 25 mm 정도의 약간 성

Table 1. HPLC 조건

Column: Waters Bondapak C ₁₈ (5 μ m \times 300 mm)
검출파장: UV 313 nm
Aufs: 0.05
Flow rate: 1.0 ml/min
Injection Volume: 10 μ l
Eluent: MeOH/H ₂ O (0.5% acetic acid)

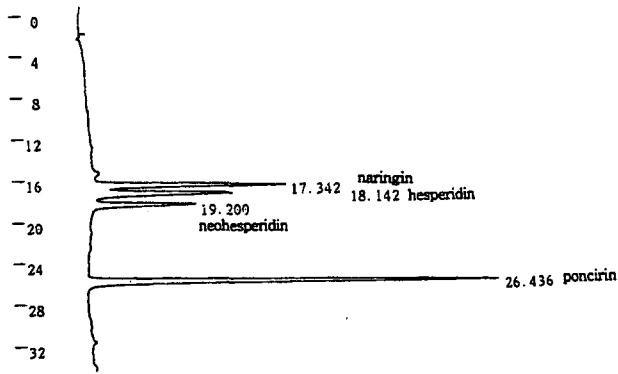


Fig. 2. HPLC chromatograph of standard flavonoid glycosides.

속한 지실에 이르기까지 다양하였다. 회분정량시험에서 대부분의 지실은 기준치 이하로 나타나 적합하게 판정되었으며, 산불용성회분은 거의 검출되지 않아 적합하였다(Table 2).

2. Poncirin, Naringin정량

지실의 flavonoid glycoside류 중에서 poncirin, naringin, hesperidin, neohesperidin을 효과적으로 분리하기 위하여, 여러가지 용매 조건을 실험한 결과, MeOH/H₂O (0.5% acetic acid) 용매조건이 적합하였다(Table 1). 용매경사를 주어 분당 1 ml의 속도로 용매를 용출시킬 때, Naringin은 17.34분, hesperidin은 18.14분, neohesperidin은 19.2분에

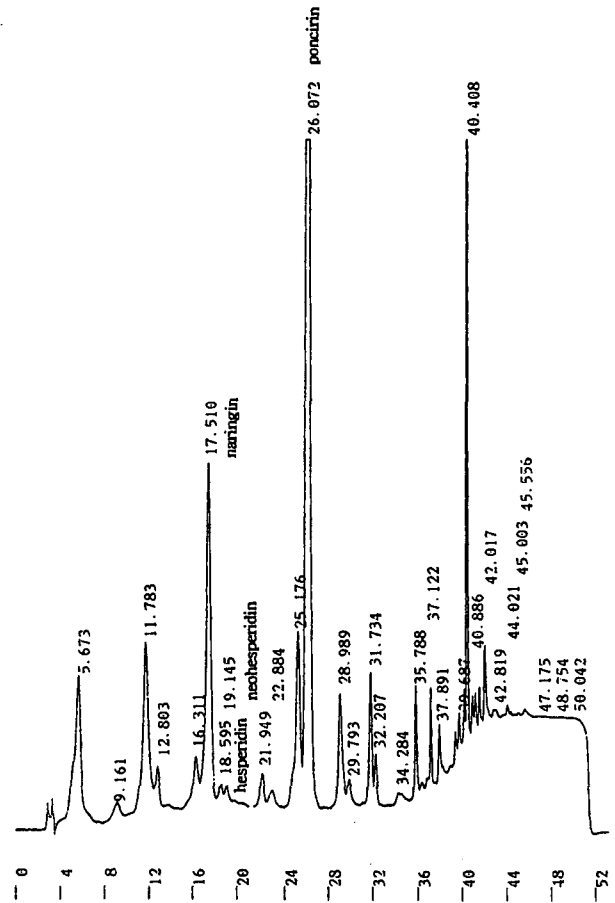


Fig. 3. HPLC chromatograph of the extracts of Poncirus Fructus.

Table 2. Contents of flavonoid glycosides in various source of Poncirus Fructus

검체 채취원	성상	발색시험	회분정량 (6% 이하)	산불용성회분 (0.7%)	Poncirin 함량(%)	Naringin 함량(%)
A	표면 녹색, 지름 23-26	적합	2.97	N.D	4.37	4.25
B	표면 녹색 지름 7-16	적합	3.43	-	8.70	4.19
C	표면 녹색 지름 20-22	적합	3.12	-	3.36	3.48
D	표면 녹색 지름 8-16	적합	2.87	-	6.60	3.76
E	표면 녹색 지름 7-15	적합	3.12	-	10.93	5.45
F	표면 녹색 지름 4-7	적합	2.90	-	14.93	4.56
G	표면 진한 녹색 지름	적합	3.64	-	11.79	4.91
H	표면 흑갈색 지름 10-18	적합	2.65	-	3.86	2.89
I	표면 녹색 지름 8-15	적합	3.16	-	7.99	3.90
J	표면 진갈색 지름 10-20	적합	2.74	-	5.15	3.56
K	표면 녹색 지름 8-14	적합	3.42	-	9.02	4.24
L	표면 진갈색 지름 12-16	적합	3.24	-	3.41	8.38
M	표면 진갈색 지름 12-17	적합	2.56	-	3.35	1.63
N	표면 진갈색 지름 10-15	적합	1.81	-	2.02	0.87
O	표면 흑갈색 지름 10-16	적합	3.34	-	3.36	2.95
P	표면 진갈색 지름 9-18	적합	3.27	-	2.77	2.59
Q	표면 진갈색 지름 11-17	적합	2.40	-	3.31	0.58
R	표면 갈색 지름 12-18	적합	3.92	-	3.65	4.55

용출하였다. poncirin은 약 26.14분에 용출하였다. 지실중에 hesperidin과 neohesperidin 함량은 미량이었으며, 다량으로 함유되어 있는 poncirin, naringin에 대해서는 검량선을 작성하여 정량하였다. 실험 결과, 지실에 함유된 Poncirin은 2.02%~14.94%로 나타났으며, Naringin은 0.58%~8.38%로 나타났다.

IV. 고 찰

지실은 和胃, 消肝의 효능이 있으며, 脫肛, 子宮脫, 腸炎 등에 주치목적으로 사용되어 왔다. 한국에서는 탕자나무 (*Poncirus trifoliata rafia*)의 미숙과를 건조시킨 것을 사용하며, 중국에서는 酸橙(*Citrus aurantium L.*)의 어린 열매를 건조시킨 것을 사용한다. 모두 특유의 향기를 가지고 있으며, 이들의 약리작용은 지실에 함유된 flavonoid류에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다.

지실의 검체 구입은 유통량이 많은 경동시장내 약업사, 한의원에서 하였으며, 산지 및 채취시기 및 저장기간의 다양성을 확보하는 방법으로 유통량이 상대적으로 적은 약국에서 구입하였다. 지실의 색깔은 녹색으로 부터 갈색, 진갈색, 흑갈색까지 다양하였으며, 신선한 것일수록 녹색을 띠고 있었다. 크기는 직경 3~4 mm의 어린 지실로 부터 직경 25 mm 정도의 약간 성숙한 지실에 이르기까지 다양하였다. 실험치에서 나타난 결과를 보면, 지실의 크기와 poncirin 등의 성분 함량에는 어느 정도의 상관성이 있을 것으로 보인다. 대부분의 지실은 크기에 상관없이 회분정량시험에서 기준치 이하로 나타나 적합하게 판정되었다. 시중에 유통되고있는 대부분의 생약은 외관상 깨끗하게 보였으며 실험결과 산불용성회분은 거의 검출되지 않았다.

지실의 flavonoid중 poncirin, naringin, hesperidin, neohesperidin을 효과적으로 분리하기 위하여, 여러가지 용매 조건을 실험한 결과, MeOH/H₂O(0.5% acetic acid) 용매 조건이 적합하였으며, 용매경사를 주어 용출시킬 때 Naringin은 17.34분, hesperidin은 18.14분, neohesperidin은 19.2분에 용출하였으며, poncirin은 약 26.14분에 용출하였다(Fig. 1, Fig. 2). 대부분의 지실에서 hesperidin과 neohesperidin 함량은 미량으로 검출되었다. 연구 검토 결과, 지실에 함유된 Poncirin은 2.02%~14.94%, Naringin은 0.58%~8.38%로 채취원에 따라 큰 편차를 나타냈다. 이러한 결과는 지실의 주성분인 poncirin 및 naringin의 함량이 산지별, 채취시기별, 생약의 크기별로 다양하게 나타날 수 있다는 것을

시사한다. 이는 약용으로 사용되는 지실이 단지 탕자의 미숙과를 채취한 후 건조하는 것이어서, 산지 뿐만 아니라 채취시기에 따라 크기가 다르기 때문인 것으로 보인다. 실제로 유통 단계에서 지실은 크기가 작은 것일수록 우수한 약재로 평가되는데, 약재의 크기 또는 채취시기와 유효성분의 함량변화에 명확한 상관성이 있는지를 평가하기 위하여 연구를 진행 중이다.

한국산 지실은 *Poncirus trifoliata*로서, 주성분으로 flavonoid인 poncirin을 다량 함유하며, naringin, hesperidin, neohesperidin 등 함유되어 있다. 반면에 중국산 지실은 酸橙(*Citrus aurantium*)의 어린열매로서 naringin을 비롯한 hesperidin, neohesperidin 등이 함유되어 있으나, 한국산 지실의 주성분인 poncirin은 함유하고 있지 않다. 시중에서 유통되는 지실은 대부분 한국산이었으며, 중국산 지실(*Citrus aurantium*)은 큰 열매의 건조품이 지각으로 사용되는 경우가 많았다. 지실의 품질기준을 설정할 때에는 위에 기술된 내용이 종합적으로 고려되어야 할 것으로 보인다.

V. 결 론

지실의 품질표준화연구의 목적으로 poncirin 및 naringin의 함량을 HPLC를 이용하여 분석한 결과

1. 지실중의 poncirin 함량은 2.01~14.94% 이었다.
2. 지실중의 naringin 함량은 0.58~8.38% 이었다.
3. 회분시험 결과 6% 이하의 회분량이어서 적합관정을 내릴 수 있었다.
4. 산불용성회분시험 결과 거의 검출되지 않아 적합하였다.

참고문헌

1. 中藥大辭典, p.1236, 一中社.
2. 中國本草圖鑑, 723, 1984.
4. Perry, S. G.: Chem. Britain, 7: 366, 1977.
5. Donet, J. N., Kennedy, G. L. and Knox, J. H.: Nature, 237: 77, 1972.
6. Wagner, H., Aurnhammer, G., Horhammer, L., Forkas, L. and Nogradi, M.: Chem. Ber. 102: 785, 1969.
7. Lee, Y. M., Kim, D. K., Kim, S. H., Shin, T. Y. and Kim, H. M.: J. Ethnopharmacol. 54: 77, 1996.
8. Teng, C. M., Li, H. L., Wu, T. S. and Huang, T. F.: Throm. Res., 66: 549, 1992.
9. Guitto, A., Rodihiero, P. and Quinily, U.: Z. Naturforsch., C., 30: 420, 1975.