생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
29(1) : 18~21(1998)

광곽향(*Pogostemon cablin* Benth.)으로부터 Patchouli alcohol의 분리 및 함량분석

강삼식*, 김주선, 지형준, 원도희[1]

서울대학교 천연물과학연구소, [1]식품의약품안전본부

Isolation and Quantitative Determination of Patchouli alcohol from *Pogostemon cablin* Benth.

Sam Sik Kang*, Ju Sun Kim, Hyung Joon Chi and Do Hee Won[1]

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460; and [1]Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

Abstract – A method for isolation and quantitative determination of patchouli alcohol from Pogostemonis Herba (*Pogostemon cablin*) has been developed. Isolation of patchouli alcohol was achieved by column chromatography employing the normal-phase gradient separation system *n*-hexane-ether on silica gel column. The GC method for quantitative determination of patchouli alcohol provided a method for standardization of the raw drug. It suggested that the average content of patchouli alcohol in Pogostemonis Herba is about 0.26%.

Key words – Pogostemonis herba, quantitative determination of patchouli alcohol, GC method.

꿀풀과(Labiatae)에 속하는 광곽향 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.의 건조경엽을 한약재로 광곽향(廣藿香)이라고 하며 방향건위, 진토의 효능이 있고 식욕부진, 소화불량, 복통, 토사, 유행성감기 예방 등의 치료에 이용되고 있다. 한편 배초향(*Agastache rugosa*)을 기원식물로 하는 곽향도 한국이나 중국에서 상용되고 있다.

광곽향은 100여년전에 중국 광주지방에서 재배가 시작된 Patchouli를 광곽향이라 하며 중국약전에 수재되어 있고, 곽향은 수재되어 있지 않으나 다같이 상용된다고 알려져 있다.[1] 우리나라에서는 곽향 및 광곽향 모두 약전외 생약규격집에 수재되어 있다.[2]

광곽향의 정유성분 즉, patchouli oil은 이미 1869년 Gal이 처음으로 얻었으며 후에 Goldstone이 이 정유의 특성으로서 $C_{15}H_{24}$의 분자식을 갖는다고 보고[3]한 이래 주 방향성분인 patchouli alcohol (patchoulol)이 Büchi 등의 연구결과 알려졌고, 정확한 화학구조는 1963년 x-ray분석에 의해 밝혀졌다. 또한 1972년 Mirrington과 Schmalzl[4]에 의해 최초로 합성되었고, 1981년에 이 화합물의 ^{13}C-NMR data가 Neszmelyi와 Lukacs 등[5]에 의하여 처음으로 assignment되어 보고되었다. 이 화합물 이외에 α-, β-, γ- 및 δ-patchoulene, α- 및 δ-guaiene, α- 및 β-bulnesene, seychellene, cycloseychellene, α-gurjunene, β-elemene, caryophyllene, *allo*-aromadendrene, aromadendrene, pogostone, pogostol 등의 sesquiterpene계 화합물들과, α- 및 β-pinene, limonene, camphene 같은 monoterpene류 등이 알

*교신저자 : Fax 02-743-3323

려져 있으나,[4,6,7] 이중 특이성분이며 주성분인 patchouli alcohol이 광곽향의 분석시 지표물질로서 타당할 것으로 사료되어 이 물질을 이용하여 그 함량분석을 다음과 같이 실험하였다.

재료 및 방법

검체 - 1996년 국내 5개지역(서울, 청주, 안동, 대구, 광주)에서 시판되고 있는 광곽향을 구입하여 마쇄한 검체를 사용하여 한약(생약)규격집주해에 따라 다음과 같이 이화학적 실험을 실시하였다.

확인시험 - 검체 2.0 g에 물 20 ml를 넣고 잘 흔들어 섞은 다음 증류한 후, 증류액 2 ml를 취하여 2,4-디니트로페닐히드라진시액 0.5 ml를 넣어 등색으로 혼탁 하는 것을 확인하였다.

건조감량 - 검체 약 2~6 g을 미리 무게를 단 칭량병에 넣어 그 무게를 정밀하게 달아 105℃에서 5시간 동안 건조하여 데시케이터(실리카 겔)에서 방냉하고 그 무게를 정밀하게 달았다. 다시 이것을 105℃에서 건조하고 1시간마다 무게를 정밀하게 달아 항량이 되었을 때의 감량을 건조감량(%)으로 하였다.

정유함량 - 검체 50 g을 500 ml의 증류수를 가해 수증기증류 정유추출장치에서 130~150℃로 5시간 동안 수증기 증류하여, 장치에 미리 가해준 2 ml의 xylene층을 취하여 상온에서 유량(ml)을 재고 xylene양을 빼주어 정유량으로 하였다.

Patchouli alcohol의 분리 - 검체 2 kg을 수증기 증류 정유추출장치에서 수증기 증류하여 ethyl ether층에 모아진 정유를 무수 Na_2SO_4로 탈수한 후 저온에서 농축하여 ether를 제거하고 정유를 얻고 이를 SiO_2 column chromatography를 실시하여 *n*-hexane:ethyl ether로 gradient elution 시켜 얻은 분획을 *n*-hexane으로 재결정하여 patchouli alcohol을 얻었다.

^{1}H-NMR(300 MHz, $CDCl_3$)δ: 0.797(3H, d, J =6.9 Hz, CH_3), 0.848, 1.071, 1.082 (3H each, s, CH_3); ^{13}C-NMR(75.5 MHz, $CDCl_3$)δ: 75.78 (C-1), 43.78(C-5), 40.18(C-11), 39.16(C-7), 37.72 (C-10), 32.72(C-2), 28.89(C-9), 28.64(C-3), 28.15(C-4), 26.89(C-14), 24.61(C-8), 24.35(C-6), 24.35(C-15), 20.68(C-13), 18.61(C-12).

GC의 분석조건 - 본 실험에 사용한 GC system은 Hewlett Packard 5890 Series II Plus를 사용하였으며 실험조건은 다음과 같다.

Column: SE 30(30 m×0.53 mm×1.2 μm); column temp.: 50℃ → 200℃(4 ℃/min); carrier gas : He(10 ml/min); detector : FID; detector temp.: 280℃; injector temp.: 280℃; chart speed : 0.5 cm/min.

검액의 조제 - 앞의 정유함량 항에서 얻은 정유를 무수 Na_2SO_4로 탈수한 후 $CHCl_3$를 가하여 100 ml로 하고, 이를 다시 1/5로 희석하여 검액으로 사용하였다.

표준검량선의 작성 - 분리한 patchouli alcohol 4.0 mg을 정평하여 $CHCl_3$을 가해 10 ml로 하여 400 μg/ml의 stock solution을 만들고, 이를 일정량씩 취하여 $CHCl_3$로 희석시켜 200, 100, 50 μg/ml 농도의 표준용액을 조제하였다. 각 표준용액 1 μl를 취하여 GC를 실시하여 얻은 chromatogram으로부터 면적을 구한 후 이들 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하였으며 (Fig. 2 참조) 이때 회귀직선 방정식은 y=584.6558x+7048.943 (r=0.9983)이었다.

Patchouli alcohol의 함량 - 전항에서 조제한 각

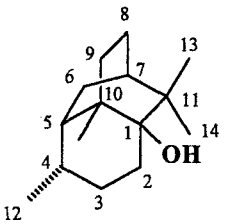

Fig. 1. Structure of patchouli alcohol and its numbering system.

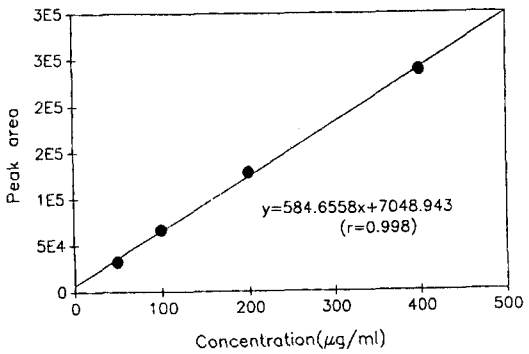

Fig. 2. Calibration curve for patchouli alcohol.

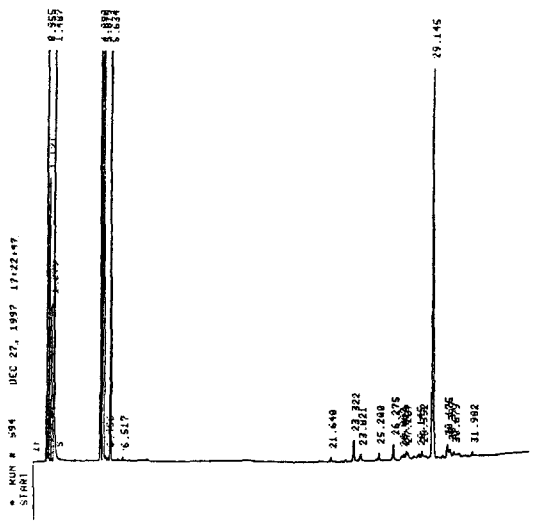

Fig. 3. Typical GC chromatogram of patchouli oil.

검액으로 GC를 실시하여 얻은 chromatogram (Fig. 3 참조)에서 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로 부터 각각의 patchouli alcohol 함량을 구하였다. 이때 patchouli alcohol의 peak는 분리한 patchouli alcohol과 직접적으로 spike test를 실시하여 확인하였다.

결과 및 고찰

국내 5개 지역에서 수집한 시판 검체에 대하여 약전규격에 적합한지를 평가하기 위하여 생약규격집에 의거 확인시험을 실시한 결과 2,4-dinitrophenylhydrazine시약에 모두 등색으로 혼탁됨을 확인하였다. 또한 건조감량 시험에서는 광주(8.22%) 및 청주(8.93%)에서 수집한 검체가 9% 이하로 비교적 적었으며, 대구(11.11%), 서울(11.92%), 안동(13.0%) 등에서 수집한 검체는 11% 이상으로 비교적 많이 감량되었으나 13%을 초과한 검체는 없었다.

광곽향에 함유된 정유(patchouli oil)의 함량을 측정하기 위하여 정유함량을 분석한 결과 5개 검체 모두 0.3 ml 이상으로 수집장소에 따른 유의성은 없었다. 이상의 확인시험결과 국내에서 유통되고 있는 광곽향은 모두 생약규격에 적합한 것으로 평가되었다.

Patchouli oil중 지표성분인 patchouli alcohol의 함량을 측정하기 위하여 patchouli alcohol의 분리를 시도하였다. Patchouli oil을 silica gel column에 걸고 *n*-hexane으로 용출 시킨 후 ethyl ether을 5%까지 순차적으로 증가시켜 용출하여 얻은 용출액을 농축한 후 *n*-hexane-EtOAc(=5:1)로 tlc를 실시하여 chromatogram에 따라 9개의 소분획을 얻고 이중 소분획 6으로부터 patchouli alcohol을 얻었다. 이 화합물의 ^{1}H-NMR 및 ^{13}C-NMR data가 각각 문헌치[5,8]와 완전히 일치하는 것으로 보아 소분획 6으로부터 얻은 화합물은 patchouli alcohol임을 확인하였으며, DEPT spectrum으로 이를 확정할 수 있었다.

이상과 같이 분리확인된 patchouli alcohol을 지표물질로서 사용가능성을 검토하기 위하여 patchouli oil의 gas chromatograph를 실시하였다. 분석조건을 검토하기 위하여 여러가지 조건에서 GC chromatogram을 얻고 이들을 검토한 결과 Fig. 3에서와 같이 SE 30(30 m×0.53 mm×1.2 μm) capillary column을 사용했을 때 가장 좋은 결과를 얻을 수 있었다. 이때 oven 온도는 50°에서 200℃까지 분당 4℃로 승온하였으며 이 조건에서 지표물질인 patchouli alcohol의 retention time은 약 29.1분에서 나타나 다른 물질들의 peak와는 base line separation 되므로 적합한 분석조건임을 확인하였다. 다음에 patchouli alcohol의 표준검량선을 작성하기 위하여 400 μg/ml의 stock solution을 만들고 이를 희석하여 표준용액을 제조하였다. 각 표준용액의 GC chromatogram으로부터 얻은 peak면적과 농도와의 관계로 부터 검량선을 작성한 결과 Fig. 2에서와 같이 50~400 μg/ml의 농도범위에서 직선성이 인정되었으며 이때의 회귀직선방정식은 $y=584.6558x+7048.943$이었고, 상관계수 r값은 0.9983으로 매우 양호한 직선관계를 확인할 수 있었다. 정유추출장치를 이용하여 얻은 patchouli oil을 같은 조건에서 GC을 실시하

Table I. Patchouli alcohol content in Pogostemonis herba

Sample collected	Content (%)
Seoul	0.35±0.01
Chungju	0.19±0.01
Andong	0.30±0.01
Taegu	0.25±0.02
Kwangju	0.21±0.02

*Values are mean±S.D., n=3.

여 얻은 chromatogram으로부터 patchouli alcohol의 peak 면적을 구한 후 상기 회귀직선방정식으로부터 그 함량을 구한 결과 Table I과 같이 0.19~0.35%을 나타내었으며 평균값은 0.26%을 나타내었다. 따라서 광곽향중 patchouli alcohol의 함량은 0.26% 이상으로 규정함이 타당하다고 사료된다.

사 사

본 연구에 소요된 경비의 일부는 1996년도 생약·한약재 품질표준화 연구(보건복지부)의 지원에 의하여 이루워 졌으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 한대석 (1996) 한국 중국 일본의 생약 비교연구, 45-47. 한국의약품수출입협회, 서울.
2. 지형준, 이상인(1988) 대한약전외 한약(생약)규격집 주해서, 68, 71. 한국메디칼인덱스사, 서울.
3. Fraga, B. M.(1991) Sesquiterpenoids, *In* Charlwood, B. V. and Banthorpe, D. V. (ed.), Methods in plant biochemistry, Vol. 7, Chapter 4 145-185. Academic Press, London.
4. Mirrington, R. N. and Schmalzl, K. J.(1972) Studies with bicyclo[2.2.2]octenes. V., The total synthesis of (±)-patchouli alcohol. *J. Org. Chem.* 37: 2871-2877.
5. Neszmelyi, A. and Lukacs, G. (1981) Natural abundance ^{13}C-^{13}C coupling constant for carbon connectivity pattern determination and N. M.R. spectral analysis: Patchoulol. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 999-1001.
6. Tsubaki, N., Nishimura, K. and Hirose, Y.(1967) Hydrocarbons in patchouli oil. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 40: 597-600.
7. Akhila, A., Sharma, P. K. and Thakur, R. S. (1988) Biosynthetic relationships of patchouli alcohol, seychellene and cycloseychellene in *Pogostemon cablin*. *Phytochemistry* 27: 2105-2108.
8. Pouchert, C. J. and Behnke, J.(1993) The Aldrich library of ^{13}C and ^{1}H FT NMR spectra, Vol. 1, 257. Aldrich Chemical Company, Inc.

(1998년 1월 10일 접수)