

## 하수오의 품질 평가

나민균,<sup>1</sup> 박진영,<sup>1</sup> 안인파,<sup>1</sup> 이상명,<sup>1</sup> 김영호,<sup>1</sup> 이종필,<sup>2</sup> 성락선,<sup>2</sup> 이경순,<sup>3</sup> 배기환<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 약학대학, <sup>2</sup>식품의약품안전청, <sup>3</sup>충북대학교 약학대학

### Quality Evaluation of Polygoni Multiflori Radix

Minkyun Na,<sup>1</sup> Jin Young Park,<sup>1</sup> Ren Bo An,<sup>1</sup> Sang Myung Lee,<sup>1</sup> Young Ho Kim,<sup>1</sup>

Jong Pill Lee,<sup>2</sup> Rack Seon Seong,<sup>2</sup> Kyong Soon Lee<sup>3</sup> and KiHwan Bae<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764,

<sup>2</sup>Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704,

<sup>3</sup>College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

**Abstract** – Polygoni Multiflori Radix, the root of *Polygonum multiflorum* Thunb., has been used as a tonic, and in the inflammation and constipation in Korea. In order to evaluate the quality of Polygoni Multiflori Radix, the method of isolation and quantitative determination of emodin as a reference standard compound has been developed. Different specimens of Polygoni Multiflori Radix were collected from twenty Korean markets and were analyzed with HPLC using the mobile phase of MeOH-water (64:36). The average content of emodin from Polygoni Multiflori Radix in Korean markets was 0.021%

**Key words** – *Polygonum multiflorum* Thunb., Polygoni Multiflori Radix, emodin, HPLC, quantitative determination.

하수오(Polygoni Multiflori Radix)는 마디풀과(Polygonaceae)에 속하는 하수오(*Polygonum multiflorum* Thunb.)의 덩이뿌리로서 한방에서는 강장, 항염증 및 사하약으로 혈허위황(血虛萎黃), 수발조백(鬚髮早白), 유정붕대(遺精崩帶), 웅저나력(癱瘓直癱), 장조변비(腸燥便秘) 등에 사용되어 왔다.<sup>1)</sup> 대한약전의 한약(생약) 규격집 주해서<sup>2)</sup> 및 중화인민공화국약전<sup>3)</sup>에서는 하수오의 기원식물로 *Polygonum multiflorum* Thunb.의 덩이뿌리를 규정하고 있으나 하수오의 품질평가를 위해 전국 시장에서 유통되고 있는 하수오를 조사해 본 결과, 하수오에는 하수오(*P. multiflorum* Thunb.) 이외에 백하수오(*Cynanchi Wilfordii Radix*)가 상당히 사용되고 있었다. 백하수오(*Cynanchi Wilfordii Radix*)는 박주가리과(Asclepiadaceae)의 *Cynanchum bungei* Dence, *C. auriculatum* Royle ex Wight, *C. wilfordii* (Maxim.) Hemsl. 등의 덩이뿌리로<sup>4)</sup> 그 기원이 마디풀과의 하수오와는 전혀 다른 생약이다. 하수오

는 중국이 원산지로서 알려져 있으며 국내에서도 재배되고 있으나 대부분은 중국에서 수입되고 있는 실정이다. 따라서 하수오의 기원 및 품질을 규격화할 필요가 있다고 사료된다. 이에 본 연구에서는 하수오의 주성분을 분리하고 이것을 지표물질로 하여 HPLC에 의한 품질평가법을 확립하였으며, 이를 이용하여 국내에서 유통되고 있는 하수오의 성분을 비교 분석하였다. 하수오의 성분으로는 anthraquinone 화합물인 emodin, chrysophanol, rhein, physcion 및 이들의 배당체와 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene 2-O-β-D-glucopyranoside 및 2"-O-mono-galloyl ester, 3"-O-mono-galloyl ester 등이 보고된 바 있다.<sup>5)</sup> 이들 성분 가운데 함량이 많고 monoamine oxidase 억제활성,<sup>6)</sup> 항균활성,<sup>7)</sup> 항산화활성,<sup>8)</sup> 항암활성,<sup>9,10)</sup> 항염증활성,<sup>11)</sup> myocardial protective effect<sup>12)</sup> 등이 있는 emodin을 지표성분으로 하여 HPLC에 의한 품질평가법을 확립하였으며, 이를 이용해 국내에서 유통되고 있는 하수오의 성분을 비교 분석하였다.

\*교신저자 : Fax 042-823-6566

## 재료 및 방법

**재료** - 본 연구에 사용한 하수오는 1999년 국내(서울, 경기도 광명, 경기도 안양, 경기도 성남, 경기도 군포, 경기도 화성, 대전, 충남 논산, 충남 금산, 전북 익산, 전북 전주, 광주) 20개 지역에서 판매되는 하수오를 마쇄한 후 검체로 사용하였다.

**기기** - 용점은 Electrothermal 9100 (England)을, IR은 JASCO Report-100을, MS는 JMS-HX110 (Japan)을, NMR은 Bruker DRX-300 (300 MHz, Germany)을 사용하여 측정하였고, 회화로는 Electronic Murfll Furnace SEF-301 (Korea)을, HPLC는 Shimadzu (LC-10AD pump, CTO-10A oven, SPD-10 AV UV detector, Japan)의 것을, column은 Waters Nova-Pak C<sub>18</sub> (3.9×150 mm)을 사용하였다.

**지표성분의 분리** - 건조한 하수오의 뿌리 2 kg을 40°C에서 EtOH로 2시간 동안 5회 반복 추출하여 EtOH ex. 172 g을 얻었다. 이 추출물을 물로 현탁시킨 후 ethylacetate 및 *n*-butanol로 용매분획하였고, 감압농축하여 ethyl acetate 분획물 37 g, *n*-butanol 분획물 41 g, 수용성 분획물 92 g을 얻었다. Ethyl acetate 분획물에 대해 silica gel column chromatography를 실시하였으며 용매는 *n*-hexane-ethyl acetate (1:1)에서 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1:0→1:1)을 gradient로 사용하여 7개의 분획을 얻었다. 이 중 분획물 3을 반복해서 silica gel column chromatography [CHCl<sub>3</sub>-MeOH (10:1→1:1)]를 실시하였고, EtOH에서 재결정시켜 주성분으로 석출되는 주황색 침상결정 물질을 얻었다.

**Emodin** - Orange needle (EtOH), m.p. 255~257°C. IR  $\nu_{\max}$  (KBr) cm<sup>-1</sup>: 3450 (OH), 1620 (C=O), 1580, 1480, 1460. UV  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ) (EtOH): 221 (4.4), 253 (1.9), 266 (2.1), 290 (2.5). EI-MS (70eV) *m/z*: 270 [M<sup>+</sup>]. <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 12.03 (1H, s, 8-OH or 1-OH), 11.95 (1H, s, 8-OH or 1-OH), 7.31 (1H, d, *J*=1.2 Hz, H-4), 7.01 (1H, d, *J*=1.2 Hz, H-2), 6.99 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-5), 6.50 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-7), 2.38 (3H, s, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 189.2 (C-9), 180.7 (C-10), 165.4 (C-6), 164.3 (C-8), 161.2 (C-1), 147.8 (C-3), 134.6 (C-5a), 132.4 (C-4a), 123.7 (C-4), 120.1 (C-2), 112.9 (C-1a), 108.6 (C-5, C-8a), 107.6 (C-7), 21.3 (3-Me).

**검액의 조제** - 건조한 하수오 2.0 g을 ethyl ace-

tate 20 ml로 2시간 환류추출하였다. 이 추출액을 여과한 후 잔사를 ethyl acetate 20 ml로 3회 세척하고 여액과 합하여 감압농축하였다. 농축물을 HPLC MeOH에 녹여 전체를 20 ml로 한 후 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과한 것을 검액으로 하였다.

**표준검량선의 작성** - emodin을 메탄올에 녹여 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 75.0, 100.0  $\mu$ g/ml 농도의 표준용액을 조제하였다. 각 표준용액 10  $\mu$ l를 취하여 HPLC를 실시하였고, peak 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성한 결과 6.25~100.0  $\mu$ g/ml에서  $y=42300x+60000$  ( $r=0.9993$ )의 직선성을 나타내었다 (Fig. 1).

**HPLC 분석조건** - Column은 Nova-Pak C<sub>18</sub> (3.9×150 mm, Waters)을, 검출기는 자외부흡광광도계 (측정파장 290 nm)를 사용해 측정하였으며, 이동상으로는 MeOH-water (64:36), 온도는 40°C, 유속은 1.0 ml/min, 주입량은 10  $\mu$ l로 하여 분석하였다.

**Emodin의 함량** - 각 검액 10  $\mu$ l씩을 정확히 취하여 위의 분석조건으로 지표물질과 시장에서 구입한 하수오에 대해 HPLC를 실시하였다. 각 검액에서 얻어진 피크면적을 검량선에 대입하여 각 시료들에 함유된 emodin의 함량을 구하였다.

**확인시험** - 검체를 가루로 한 후 암모니아시액을 떨어뜨렸을 때 진한 적색을 나타내는지 확인하였다. 또한 검체 1.0 g에 물 10 ml를 넣고 끓인 다음 여과한 여액 1 ml에 염화제이철시액 1~2 방울을 넣었을 때의 변화도 확인하였다.

**건조검량** - 분석용 검체 3 g을 미리 무게를 단 칭량병에 넣어 그 무게를 정밀하게 달아 105°C에서 5시간 건조하여 데시케이터에서 방냉하고 그 무게를 정

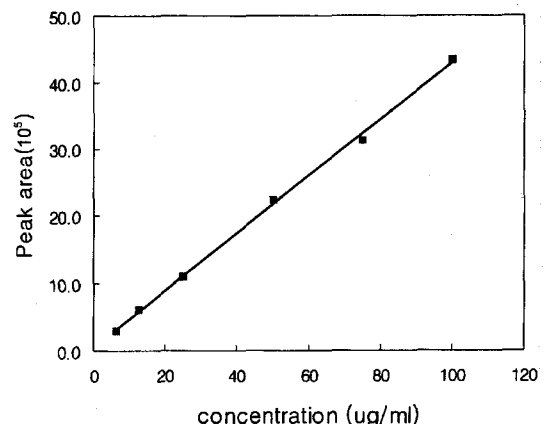


Fig. 1. Calibration curve of emodin.

밀하게 달아 향량이 되었을 때의 감량을 건조감량(%)으로 하였다.

**회분시험** - 미리 백금제 도가니를 500~550°C에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 분석용 검체 약 2g을 취하여 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달아 500~550°C에서 4시간 이상 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하고 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달아 회분량(%)으로 하였다.

**산불용성회분시험** - 회분에 묶은 염산 25ml를 넣고 5분간 끓여 불용물을 정량용 여과지를 써서 여과하여 취하고 열탕으로 잘 씻어 잔류물을 여과지와 함께 건조한 다음 회분의 향과 같은 조작으로 무게를 미리 단 백금제 도가니에서 3시간 강열하여 데시케이터에서 방냉하고 그 무게를 달아 산불용성회분량으로 하였다. 이렇게 하여 얻은 값이 규정 값보다 클 경우에는 향량이 될 때까지 강열하였다.

### 결과 및 고찰

하수오의 정량분석 지표물질로 emodin을 순수 분리하였다. 하수오를 ethanol로 추출한 후 순차적으로 용매분획하였고, 그 중 ethyl acetate 분획물에 대해 silica gel column chromatography를 실시하였으며 용매는 n-hexane-ethyl acetate (1:1)에서 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (1:0→1:1)을 gradient로 사용하여 7개의 분획을 얻었다. 이 중 분획물 3을 반복해서 CHCl<sub>3</sub>-MeOH (10:1→1:1)을 전개용매로 하여 silica gel column chromatography를 실시하였고, EtOH에서 재결정하여 주황색 침상결정 물질을 분리하였다. 이 화합물의 이화학적 성상 및 <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR spectral data를 문헌치<sup>13)</sup>와 비교하여 분리된 화합물이 emodin임을 확인할 수 있었다.

이상과 같이 분리 확인된 emodin(Fig. 2)을 지표물질로 하여 HPLC를 실시하였다. 분석조건을 검토한 결과, 고정상으로 Nova-Pak C<sub>18</sub> column (3.9×150

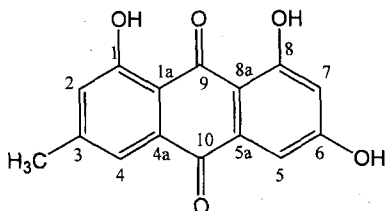


Fig. 2. Structure of emodin.

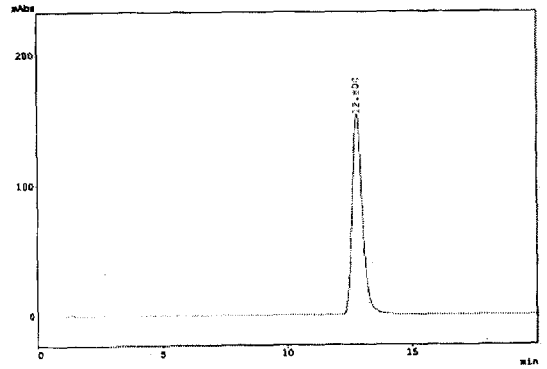


Fig. 3. HPLC chromatogram of emodin stationary phase: Nova-Pak C<sub>18</sub>, mobile phase: MeOH-water(64:36) flow rate: 1 ml/min, detector: UV 290 nm, oven temperature: 40°C.

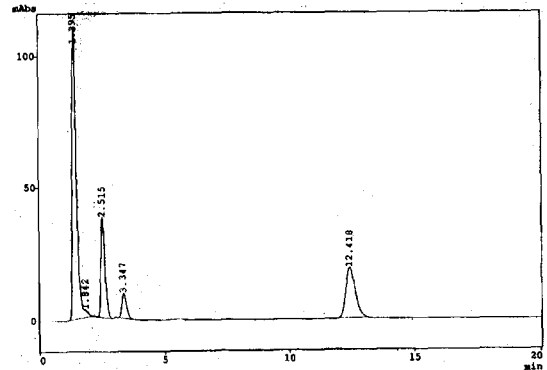


Fig. 4. HPLC chromatogram of Polygoni Multiflori Radix sample stationary phase: Nova-Pak C<sub>18</sub>, mobile phase: MeOH-water(64:36) flow rate: 1 ml/min, detector: UV 290 nm, oven temperature: 40°C.

mm, Waters)을 사용하고, 이동상으로는 MeOH-water (64:36)를 사용하며, 유속은 1.0 ml/min, 온도는 40°C일 때 retention time이 약 12.4분으로 다른 물질의 peak와 분리되므로 적합한 분석조건으로 선택하였다. 표준용액 10 μl를 취하여 이 분석조건으로 HPLC를 실시하였고(Fig. 3), peak 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성한 결과 6.25~100.0 μg/ml의 농도범위에서 y=42300x+60000 (r=0.9993)의 직선성을 나타내었다(Fig. 1). 같은 조건으로 국내 20개 지역에서 판매되는 하수오 검액에 대해 HPLC를 실시하였고(Fig. 4), 각 검액에서 얻어진 피크면적을 검량선에 대입하여 각 시료들에 함유된 emodin의 함량을 구하였다(Table I). 그 결과 하수오에 함유된 emodin의 함량은 0.000~0.071%로 시료

Table I. The content of emodin in *Polygoni Multiflori Radix*

| Sample | Emodin (%)    | Collection place | Sample | Emodin (%)    | Collection place |
|--------|---------------|------------------|--------|---------------|------------------|
| 1      | 0.000 ± 0.000 | Seoul            | 11     | 0.071 ± 0.004 | Sungnam          |
| 2      | 0.012 ± 0.003 | Seoul            | 12     | 0.000 ± 0.000 | Koonpho          |
| 3      | 0.000 ± 0.000 | Seoul            | 13     | 0.000 ± 0.000 | Hwasung          |
| 4      | 0.003 ± 0.001 | Seoul            | 14     | 0.055 ± 0.003 | Taejon           |
| 5      | 0.022 ± 0.004 | Kwangmyung       | 15     | 0.002 ± 0.001 | Taejon           |
| 6      | 0.005 ± 0.001 | Kwangmyung       | 16     | 0.000 ± 0.000 | Keumsan          |
| 7      | 0.000 ± 0.000 | Kwangmyung       | 17     | 0.000 ± 0.000 | Nonsan           |
| 8      | 0.025 ± 0.005 | Anyang           | 18     | 0.004 ± 0.000 | Kwangjoo         |
| 9      | 0.002 ± 0.000 | Anyang           | 19     | 0.038 ± 0.004 | Icksan           |
| 10     | 0.019 ± 0.001 | Anyang           | 20     | 0.031 ± 0.002 | Chunjoo          |

Values are mean ± S.D. for three measurements except the samples not containing emodin

Table II. Loss on drying, ash and acid-insoluble ash of *Polygoni Multiflori Radix*

| Samples  | Loss on drying(%) | Ash(%)      | Acid-insoluble Ash(%) |
|----------|-------------------|-------------|-----------------------|
| 1        | 12.50             | 4.89 ± 0.09 | 0.09 ± 0.06           |
| 2        | 12.29             | 3.36 ± 0.18 | 0.19 ± 0.15           |
| 3        | 9.97              | 6.25 ± 0.10 | 0.26 ± 0.01           |
| 4        | 11.89             | 3.32 ± 0.15 | 0.17 ± 0.00           |
| 5        | 11.84             | 3.13 ± 0.15 | 0.07 ± 0.00           |
| 6        | 13.45             | 3.26 ± 0.16 | 0.28 ± 0.24           |
| 7        | 10.95             | 4.25 ± 0.51 | 0.07 ± 0.02           |
| 8        | 13.38             | 2.83 ± 0.06 | 0.18 ± 0.17           |
| 9        | 11.21             | 5.14 ± 0.46 | 0.21 ± 0.23           |
| 10       | 10.21             | 5.78 ± 0.67 | 0.26 ± 0.00           |
| 11       | 11.92             | 2.90 ± 0.01 | 0.06 ± 0.00           |
| 12       | 11.22             | 4.09 ± 0.10 | 0.11 ± 0.06           |
| 13       | 12.29             | 4.04 ± 0.24 | 0.05 ± 0.02           |
| 14       | 11.86             | 3.85 ± 0.23 | 0.13 ± 0.06           |
| 15       | 13.61             | 4.36 ± 0.32 | 0.04 ± 0.03           |
| 16       | 13.15             | 3.72 ± 0.15 | 0.07 ± 0.00           |
| 17       | 12.15             | 5.30 ± 1.50 | 0.16 ± 0.01           |
| 18       | 12.91             | 4.08 ± 0.35 | 0.06 ± 0.00           |
| 19       | 12.59             | 4.57 ± 0.47 | 0.20 ± 0.15           |
| 20       | 12.37             | 3.04 ± 0.42 | 0.06 ± 0.00           |
| AV ± S.D | 12.09 ± 1.01      | 4.11 ± 0.98 | 0.14 ± 0.08           |

Values are mean ± S.D. for three measurements

간의 편차가 심했다. 20개의 검체 가운데서 emodin 이 함유되지 않은 검체가 7개 있었는데, 이것은 박주 가리과(Asclepiadaceae)의 백하수오(*Cynanchi Wilfor-*

*dii Radix*)를 하수오로 혼동해서 사용하는 것으로 추정된다. 그러므로 적하수오만의 emodin 평균함량은 0.021%이었다.

국내 20개 지역에서 시판되는 검체에 대하여 대한 약전의 한약(생약)규격집의 규정에 적합한지를 평가하기 위하여 확인시험을 실시한 결과 암모니아시액을 떨어뜨렸을 때 모두 양성을 나타내었고, 물 추출 여액에 염화제이철시액 1~2 방울을 넣었을 때 모두 자색~청색을 나타내었다. 건조감량시험 결과 평균 12.09 ± 1.01%로 모든 검체가 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서의 규정(8.0% 이하)을 초과하였다(Table II). 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서에는 회분을 5.0% 이하로 규정하고 있다. 회분시험 결과, 16개 지역의 검체는 규정에 적합하였으나 나머지는 규정을 초과하였다(Table II). 산불용성회분은 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서에서 1.5% 이하로 규정하고 있다. 20종의 검체에 대한 산불용성회분시험 결과, 평균 0.14 ± 0.08%로 모든 검체가 규정에 적합하였다(Table II).

## 결 론

1. 하수오의 주성분이며 정량분석의 지표물질로 emodin을 순수 분리하였으며, HPLC에 의한 품질평가법을 확립하였다.

2. 국내 20 곳의 시장에서 유통되고 있는 하수오를 수집하여 emodin의 함량을 분석한 결과, emodin이 함유되어 있는 13개 검체의 평균함량은 0.021%로 나타났으나, 7개의 검체에는 emodin이 함유되어 있지 않았다.

3. 건조감량 시험결과 평균 12.09 ± 1.01%로 모든

검체가 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서 규정의 8.0% 이하에 적합하지 않았다. 회분은 평균  $4.11 \pm 0.98\%$ 로 16개 지역의 검체는 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서 규정의 5.0% 이하에 적합하였으나, 나머지 4개 지역에서 판매되는 것들은 규정에 적합하지 않았다. 산불용성회분시험 결과, 평균  $0.14 \pm 0.08\%$ 로 모든 검체가 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서의 규정 (1.5% 이하)에 적합하였다.

## 사 사

본 연구는 1999년도 생약·한약재 품질 표준화연구(보건복지부)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드린다. 또한 NMR 및 MS 측정은 기초과학연구소의 기기를 이용하여 분석하였으므로 이에 감사드린다.

## 인용문헌

1. 韓國生藥學教授協議會 (1995) 本草學, 797-800. 사단법인 대한약사회, 서울.
2. 지형준, 이상인 편저 (1989) 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서, 397. 한국메디칼인텍스사, 서울
3. 중화인민공화국 위생부 약전위원회 (1995) 중화인민공화국약전, 1부, 149. 광둥과학기술출판사, 광주.
4. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외 (1998) 완역 중약대사전, 2152-2153 (4권), 5947-5955 (10권). 도서출판 정담, 서울.
5. Tang, W. and Eisenbrand, G. (1992) Chinese Drugs of Plant Origin, 787-791. Springer-Verlag, Berlin.
6. Fujimoto, H., Satoh, Y., Yamaguchi, K. and Yamazaki, M. (1998) Monoamine oxidase inhibitory constituents from *Anixiella microperitusa*. *Chem. Pharm. Bull.* 46: 1506-1510.
7. Hatano, T., Uebayashi, H., Ito, H., Shiota, S., Tsuchiya, T. and Yoshida, T. (1999) Phenolic constituents of Cassia seeds and antibacterial effect of some naphthalenes and anthraquinones on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chem. Pharm. Bull.* 47: 1121-1127.
8. Yen, G. C., Chen, H. W. and Duh, P. D. (1998) Extraction and Identification of an Antioxidative component from Jue Ming Zi. *J. Agric. Food Chem.* 46: 820-824.
9. Kuo, Y. C., Sun, C. M., Ou, J. C. and Tsai, W. J. (1997) A tumor cell growth inhibitor from *Polygonum hypoleucum* Ohwi. *Life Science.* 61: 2335-2344.
10. Chan, T. C., Chang, C. J., Koonchanok, N. M. and Geahlen, R. L. (1993) Selective inhibition of the growth of ras-transformed human bronchial epithelial cells by emodin, a protein-tyrosine kinase inhibitor. *Biochem. Biophys. Res.* 193: 1152-1158.
11. Chang, C. H., Lin, C. C., Yang, J. J., Namba, T. and Hattori, M. (1996) Anti-inflammatory effects of emodin from *Ventilago leiocarpa*. *Am. J. Chin. Med.* 24: 139-142.
12. Yim, T. K., Wu, W. K., Mak, D. H. F. and Ko, K. M. (1998) Myocardial protective effect of an anthraquinone-containing extract of *Polygonum multiflorum* ex vivo. *Planta Medica* 64: 607-611.
13. Xiuwei, Y., Zheming, G., Chaomei, M., Hattori, M. and Namba, T. (1998) A new indole derivative isolated from the root of tuber Fleeceflower (*Polygonum multiflorum*). *中草藥.* 29: 5-11.

(2000년 7월 27일 접수)