

진교(秦艽, *Gentianae Macrophyllae Radix*)의 품질표준화에 관한 연구

이광섭 · 이승재 · 김호현 · 진희억 · 함인혜 · 황완균*

중앙대학교 약학대학

Standardization of *Gentianae Macrophyllae Radix*

Kwang Sup Lee, Seung Jae Lee, Hohyun Kim, Hee Ouk Jin,

Inhye Ham and Wan Kyunn Whang*

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract – The Radix of *Gentiana macrophylla* (Gentianaceae) has been used for dispelling wind-damp, relaxing the sinews, and clearing heat from deficiency. In order to evaluate its quality, the method for the quantitative determination of gentiopicroside as standard compound has been developed. Gentiopicroside was a major compound of *Gentianae Macrophyllae Radix*. It was analyzed by HPLC using 30% MeOH as a solvent system. The amount of gentiopicroside from *Gentianae Macrophyllae Radix* was in the range of $2.22 \pm 1.22\%$ ($n=18$).

Key words – *Gentiana macrophylla*, Gentianaceae, Radix, Gentiopicroside, HPLC, Quantitative analysis.

진교는 용담과(Gentianaceae)에 속하는 큰잎용담(*Gentiana macrophylla*)의 뿌리를 사용하며 형태는 원추형으로 상부는 영성하고 거칠며 하부는 가늘고 비틀어져 있으며 매끄럽다. 길이는 7-30 cm이고 표면은 황갈색 또는 회황색으로 세로로 비틀린 주름이 있다. 근두부는 팽대하며 여러개의 근경이 합쳐져 있고 끝에는 섬유상의 엽초 및 유관속이 남아 있다. 질은 단단하면서 부스러지기 쉽고 목부는 황색이다.¹⁾

중국에서는 큰잎용담을 비롯하여 동속식물인 마화진교(*G. straminea*), 조경진교(*G. crassicaulis*) 및 소진교(*G. dahurica*)등을 진교로 사용한다. 우리나라에서는 대용품으로 오독독기(*Aconitum*속 식물)를 사용한다.²⁾ 지금까지 진교로부터 분리, 보고된 성분은 seco-iridoid인 gentiopicroside와 alkaloid인 gentianine, gentianidine, gentianal 등이 있다.^{3,4)}

최근 우리나라에서는 농산물의 개방에 따라 중국한 약재가 많이 수입되고 있고 진교와 같이 우리나라에서

거의 사용되지 않는 것은 국산품이 전혀 없어 구하기가 어려운 실정이다. 현재 유통되고 있는 진교는 거의 대부분이 중국산으로 그 기원 또한 큰잎용담을 사용하는 것으로 되어 있으나, 생산되는 지역이 일정하지 않으므로 그 기원 및 품질이 일정하지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 우리나라에서 현재 유통되고 있는 진교(20여종)의 원료를 대상으로 그 기원에 대하여 감정을 한 후 명확한 것을 구입하여 천연물화학적 방법으로 실험을 실시, 화합물들을 분리하고 그 중 가장 함량이 많고 바람직한 화합물의 구조를 gentiopicroside로 동정하였다. 따라서 gentiopicroside를 표준물질로 하여 그 기준을 HPLC로 설정하고, 이것을 기준으로 하여 시판되고 있는 진교의 기준을 HPLC로 설정하였다.

실험방법

실험재료 – 우리나라에 유통되고 있는 진교(JK)를 20개처에서 구입하여 식물학적 감정을 거친 후 실험

*교신저자 : Fax : 02-816-7338

Table I. Places of purchase and origins of *Gentiana macrophylla* Radix

| No. | Place of purchase | Origin |
|-----|-------------------|-------------------|
| 1 | 경동시장 | Chinese |
| 2 | 성남(비시루약업사) | Chinese |
| 3 | 광주(1) | Chinese |
| 4 | 안동-산득 | Unidentified |
| 5 | 평택 | Unidentified |
| 6 | 충주 | Unidentified |
| 7 | 금산(국보약초사) | Chinese |
| 8 | 서울(진흥건재약업사) | Chinese |
| 9 | 대구(영동) | Korean(ToGinKyo) |
| 10 | 신림동(갑을약업사) | Unidentified |
| 11 | 군산 | Unidentified |
| 12 | 순천 | Unidentified |
| 13 | 서울(순흥한의원) | Unidentified |
| 14 | 제주 | Unidentified |
| 15 | 서울(국일무역) | Korean |
| 16 | 대전(중도한약방) | Chinese |
| 17 | 대구(불로당) | Unidentified |
| 18 | 부산(4) | Unidentified |
| 19 | 청주 | Unidentified |
| 20 | 서울(정도물산) | Korean(YoungWall) |

에 사용하였다.

실험기기 - 용점은 Buchi melting point B-540

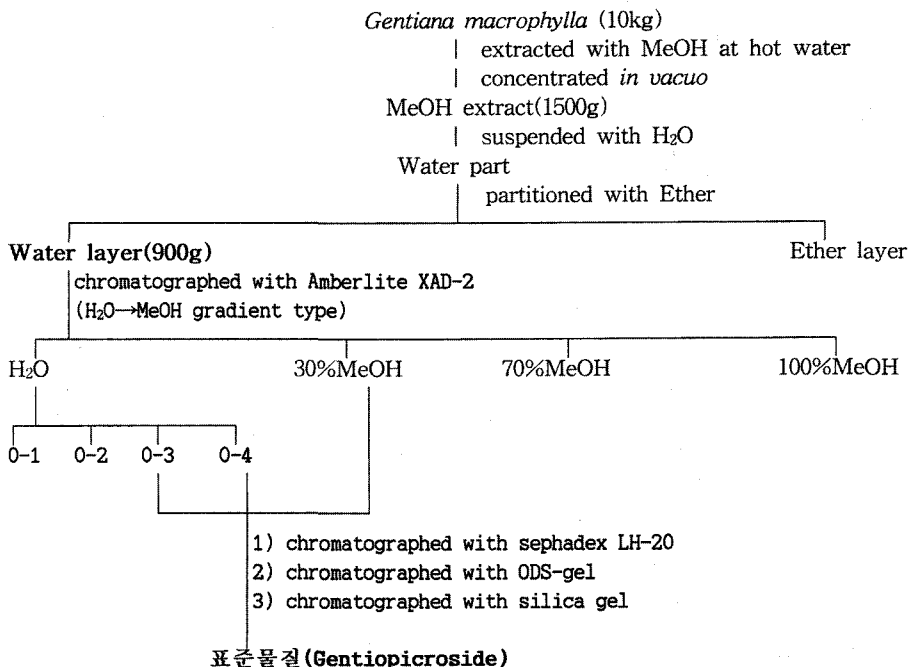
(Swiss)을, IR은 Nicolet FT-IR Spectrophotometer Magna-750(USA)을, NMR은 Varian Gemini 2000 (USA)을, Mass는 VG70-VSEQ(England)를 그리고 HPLC는 Waters™600 pump, Waters 486™ UV detector(USA)를 사용하였다.

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

묶은 에탄올 엑스 함량 - 선정된 시료 20종에 대하여 각각 2g을 정밀히 달아 100 ml 플라스크에 넣고 묶은 에탄올 70 ml를 넣고 흔들어 주면서 5시간 추출하고 다시 20시간 방치한 다음 여과하였다. 잔유물은 여액이 100 ml될 때까지 묶은 에탄올로 씻고 여액 중 50 ml를 수욕상에서 증발시킨 후 105°C에서 4시간 건조한 후 데시케이터에 방치한 후 그 무게를 달고 두 배로 하여 엑스함량(%)으로 하였다.

지표성분의 분리 및 동정

표준물질의 분리 - 2000년 6월 중순 서울 경동약령시에서 생약학적 감정을 거친 후 시판되는 진교



10 kg을 구입하여 세질 조분말화한 다음 Scheme에서와 같이 MeOH로 추출하였다. 먼저 조말 10 kg을 100 L MeOH로 열수에서 3회 추출하고 감압 농축하여 엑스 1500 g을 얻었으며 다시 물로 현탁시킨 후 ether를 처리 지용성분획과 수용성분획으로 나누었다. 다음으로 수용성분획을 비이온성 흡착수지인 Amberlite XAD-2에 흡착시키고 극성에 따라 H₂O와 MeOH를 사용하여 용출시켜 H₂O, 30% MeOH, 70% MeOH, 100% MeOH등 4개로 분획하였다.

H₂O 분획은 TLC하여 다시 4분획(0-1, 0-2, 0-3, 0-4)으로 나누었으며 이중 0-1 및 0-2 분획은 대부분이 TLC한 결과 당 및 무기염이었고 0-3 및 0-4 분획은 TLC한 결과 254 nm에서 강한 흡수대를 나타내는 물질(2개 정도)로 극성이 큰 물질이 함유되어 있는 것으로 추정하였으며 그 중 주성분으로 생각되는 화합물 분획에 대하여 sephadex LH-20 및 ODS column chromatography를 실시하여 분리하였다.

또한 30% MeOH 분획에서 0-3 및 0-4 분획에서와 같은 동일성분으로 추정되는 화합물을 sephadex

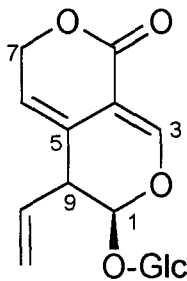


Fig. 1. Structure of gentiopicroside.

LH-20 및 ODS column chromatography를 실시하여 분리하였다.

표준물질(gentiopicroside)의 기기분석 및 구조 - 미황색 분말; mp121-122°C (uncorrected); $[\alpha]_D^{20} = -217.6^\circ$ (c=1.0, CH₃OH); FAB-Mass(-) *m/z*: 355 (M-H)⁻, 193 (M-glc)⁻; ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD, ppm): 4.65 (d, *J*=7.8 Hz, glucose anomer H), 5.20 (dd, *J*=1.5, 5.1 Hz, H-10, H-8), 5.26 (1H, d, *J*=1.5 Hz, H-1), 5.67 (d, *J*=3.0 Hz, H-8), 5.76 (s, H-1), 7.45 (d, *J*=1.2 Hz, H-3); ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD, ppm): 98.7 (C-1), 150.9 (C-3), 105.1 (C-4), 127.3 (C-5), 117.4 (C-6), 71.7 (C-7), 135.3 (C-8), 46.7 (C-9), 118.7 (C-10), 166.7 (C-11), 100.4 (C'-1), 74.7 (C'-2), 78.1 (C'-3), 71.0 (C'-4), 78.6 (C'-5), 62.9 (C'-6).

함량분석

검액의 조제 - 건조한 진교 10 g을 분말로 한 다음 MeOH 20 ml를 넣고 2시간 수욕상에서 2회 환류추출하였다. 여과한 후 잔사를 50 ml MeOH로 세척하고 그 여액을 합하여 감압 농축한후 물에 현탁시켜 ether로 3회 추출하였다. 그 후 수층을 농축하고 다시 MeOH 50 ml에 녹인후 0.45 μm filter로 여과한 후 검액으로 하였다.

표준액의 조제 및 검량선 작성 - Gentiopicroside를 MeOH에 녹여 각 표준액의 농도가 200, 300, 400, 600, 1200 μg/ml가 되도록 하여 검량선을 작성하였다. 위 조건으로 검량선을 작성한 결과 100-1200 μg/ml에서 $y=330648X+10^6$ ($r^2=0.9947$)의 직선성을 나타내었다.

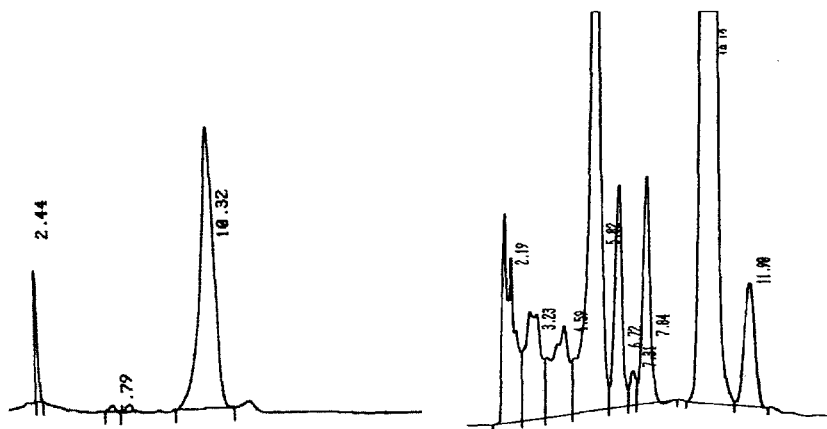


Fig. 2. HPLC chromatogram of gentiopicroside and MeOH Exts of JK-3.

Table II. The Contents of gentiopicroside, ash and EtOH exts in *Gentianae Macrophyllae Radix*

| sample | gentiopicroside(%) | ash(%) | EtOH(%) | Remarks |
|--------|--------------------|---------|----------|-------------|
| JK-1 | 3.24 | 6.15 | 26.5 | 경동시장 |
| JK-2 | 3.28 | 6.01 | 25.4 | 성남(비시루약업사) |
| JK-3 | 1.91 | 6.95 | 26.9 | 광주(1) |
| JK-4 | n | 5.78 | 21.0 | 안동-산득 |
| JK-5 | 1.87 | 5.77 | 22.3 | 평택 |
| JK-6 | 0.73 | 5.92 | 23.1 | 충주 |
| JK-7 | 2.77 | 6.03 | 24.3 | 금산(국보약초사) |
| JK-8 | 3.18 | 6.56 | 26.3 | 서울(진홍건재약업사) |
| JK-9 | n | 7.12 | 21.1 | 대구 |
| JK-10 | 3.17 | 5.79 | 25.4 | 신림동(갑을약업사) |
| JK-11 | 2.13 | 6.23 | 26.3 | 군산 |
| JK-12 | 3.23 | 6.85 | 25.9 | 순천 |
| JK-13 | 3.46 | 5.47 | 25.5 | 서울(순홍한의원) |
| JK-14 | 2.21 | 5.84 | 26.4 | 제주 |
| JK-15 | 3.18 | 6.88 | 25.3 | 서울(국일무역) |
| JK-16 | 3.25 | 6.34 | 27.1 | 대전(증도한약방) |
| JK-17 | 2.03 | 5.94 | 26.9 | 대구(블로당) |
| JK-18 | 2.74 | 6.39 | 27.5 | 부산(4) |
| JK-19 | 2.40 | 6.24 | 26.6 | 청주 |
| JK-20 | 0.24 | 5.06 | 25.8 | 서울(정도물산) |
| | 2.22±1.22(n=18) | 6.2±0.5 | 25.4±1.7 | |

HPLC 분석조건 - 칼럼: Akzo Nobel, Kromasil 100-10C₁₈(4.6×25 cm), 검출기: UV-detector(254 nm), 이동상: 30% MeOH, 유속: 1.0 ml/min.

결과 및 고찰

회분시험 - 20종의 시료에 대하여 회분함량을 실시하였으며 3회 반복 시험하여 평균치를 표시하였다. (Table II) 시료의 평균이 6.2%±0.5을 나타내어 6.7% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 사료된다.

묶은 에탄올 엑스 함량 - 선정된 시료 20종에 대하여 묶은 에탄올 엑스함량을 약전의 시험법에 따라 3회 실시, 평균치를 Table II에 표시하였다. 평균 25.4±1.7%을 나타내어 23.7% 이상으로 하는 것이 적당하다고 사료된다.

지표성분의 설정 및 당위성 - Gentiopicroside는 secoiridoid glycoside이며 진교의 주성분이며 약효성분으로 그 함량이 타성분에 비하여 다량 함유되어 있다. 따라서 배당체로서 수용성이고 UV 발색단을 분자내에 함유하므로 이 물질을 표준물질로 하여 HPLC

로 정량하는 것이 타당하다고 사료된다.

지표물질의 정량 - 각지에서 구입한 40여종의 진교 중 무작위로 20종의 시료를 선택하여 실험에 사용하였다(Table I).

MeOH 추출물에 대하여 HPLC를 실시한 결과 시료간의 함량 편차가 매우 심했다. 특히 안동 및 대구에서 구입한 것은 전혀 검출이 되지 않았으며 그것을 제외한 함량의 평균은 2.22±1.22%이었다.

결론

우리나라에서 현재 유통되고 있는 20여종의 원료를 대상으로 그 기원에 대하여 감정을 한 후 명확한 것을 구입하여 천연물화학적 방법으로 실험을 실시 화합물들을 분리하였고 그 중 가장 함량이 높고 바람직한 화합물의 구조를 물리화학적 성상 및 각종 기기분석(IR, MS, NMR)을 통하여 gentiopicroside로 동정하였으며, gentiopicroside를 표준물질로 하여 그 기준을 HPLC로 설정하였고, 이것을 기준으로 하여 시판되고 있는 진교의 기준을 설정하였다.

1. 진교의 시료중 묶은 EtOH의 함량은 $25.4 \pm 1.7\%$ 였으며 묶은 EtOH 함량은 23.7% 이상이 적합할 것으로 사료된다.

2. 시료 중 회분함량은 $6.2 \pm 0.5\%$ 를 나타내어 6.7% 이하로 하는 것이 타당한 것으로 사료된다.

3. 시료 중 gentiopicroside의 함량은 2.2% 이상이 적합하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 생약·한약재 품질표준화연구(식품의약품안전청)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 한국한의학연구원, 한약재관능검사기준연구, 1999, 보건복지부, 서울, pp. 219-221.
2. Dan, B. and Andrew, G., *Materia Medica*, 1993, Eastland Press, Seattle, pp. 156-158.
3. Tang, W. and Eisenbrand, *Chinese Drugs of Plant Origin*, Springer-Verlag, 1992, pp. 549-553.
4. Tan, R. X., Wolfender, J. L., Zhang, L. X., Ma, W. G., Fuzzati, N., Marston, A. and Hostettmann, K., Acyl secoiridoids and antifungal constituents from *Gentiana macrophylla*, *Phytochemistry*, 1996, **42**(5): 1305-1313.

(2001년 9월 14일 접수)