

한약재 수치에 관한 연구 (VI)

- 건강과 산약의 수치전·후 지표물질의 함량분석 -

이윤미 · 김진숙

한국한의학회연구원

Abstract

Studies on the Processing of Herbal Medicines (VI)

- HPLC Analysis of Standard Compounds of Unprocessed- and Processed Herbal Medicines -

Lee Yoonmee, Kim Jinsook

Korea Institute of Oriental Medicine

Zingiberis Rhizoma and Dioscoreae Rhizoma were processed according to chinese pharmacopoeia and literatures. The content of 6-gingerol in processed Zingiberis Rhizoma was significantly increased than that of unprocessed one. The content of allantoin in unprocessed Dioscoreae rhizoma through HPLC was 0.32±0.06% and after processing was not significantly decreased to 0.23±0.12%.

Keyword : processing, Zingiberis Rhizoma, 6-gingerol, Dioscoreae Rhizoma, allantoin.

수치(修治)란 한약재를 한의학의 이론에 근거하여 가공처리하여 독성의 경감, 효능 개선 또는 보관 등에 편리하게 변형시키는 한방 제제기술이다. 보건복지부에서 지정한 17종의 필수 수치한약 품목 이외에도 많은 한약재들이 임상에서 빈번하게 수치되어 사용되고 있다.

건강은 溫裏藥으로 味는 大辛하며 性은 大熱하여 回陽溫中, 溫經止血의 작용이 있다. 炮薑炭으로 제조한 후에는 溫經止血작용이 증가되어 理血劑인 生化湯(溫

經止痛), 如聖散(溫經止血), 瘡瘍濟인 陽和湯(溫陽散寒) 등에 사용된다¹⁾.

산약의 효능은 보비양위(補脾養胃), 생진(生津益肺), 보신삼정(補腎澀精)의 효능이 있어 비허식소(脾虛食少), 久瀉不止(구사부지), 폐허천해(肺虛喘咳), 腎虛遺精(신허유정), 帶下(대하), 요빈(尿頻), 허열소갈(虛熱消渴) 등의 증세에 사용된다. 부(麩)산약으로 수치하면 건비익기(健脾益氣)의 효능이 증가되어 설사변당(泄瀉

便懸), 백대과다(白帶過多), 비허식소(脾虛食少)의 치료에 사용된다.²⁾

한약재 수처 규격화 구축을 위한 일환으로, 일부 한약재들을 수처한 후 각 약재의 외면 색상변화를 「한국표준 색표집」에 의해서 고유번호를 지정하였다^{3, 4)} 그리고 황기, 오수유⁵⁾, 후박⁶⁾에 이어 건강과 산약의 수처 후의 지표물질의 함량을 분석하였기에 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용된 건강과 산약은 국산으로 서울의 경동시장에서 구입하였으며, 사용 전 동정하였으며, 표본은 한국한의학연구원, 한약제제연구부, 본 연구팀에 보관되어 있다.

시약 및 기기

지표물질인 6-gingerol, allantoin은 Wako사(Japan) 제품을 사용하였다. 유기용매는 HPLC용 Merck Co. (Germany) 제품을, 그외 시료 추출과 분석을 위한 시약은 분석용 특급 또는 1급 시약을 사용하였다. HPLC는 Dionex사(USA), Pump-P580 Pump, Injector-ASI-100 Automated sampler injector, UV/Vis Detector-UV D340S와 Shimadzu LC 10-ATVP(Japan)를 사용하였다. 각 한약재의 지표물질은 식의약청 연구결과인 「생약·한약재 품질표준화 연구」를 토대로 결정하였으며, 수처방법은 한의학의 고전 문헌 및 중국약전을 기초로 정리된 「한약재 수처법제의 규격화연구-보건의료기술연구개발사업」의 결과를 토대로 실시하였다.⁷⁾

모든 한약재들은 80℃에서 1시간 건조시킨 후 일정한 양을 칭량하였다. 지표물질들은 P₂O₅가 들어 있는 갑압

상태의 데시케이터에서 12시간 이상 건조한 후 칭량하였다. 가능한 오차를 줄이기 위하여 수처전·후의 한약재를 5개씩 추출하여 각각 5번씩 반복하여 table 1에 나타난 조건에서 HPLC 분석하였다. HPLC의 각 지표물질 피이크는 다른 피이크에 의해 방해받지 않았으므로 피이크의 면적비율로 계산하였다. 모든 시료는 0.45μm membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석하였다. 표준물질들에 대한 검량곡선식 및 상관계수는 Sigmaplot[®] 프로그램(SPSS inc. Chicago, IL, U.S.A.)에 의해 작성되었으며, 수처 전·후의 분석결과를 student t-test로 그 유의성을 검증하였다.

한약재의 수처방법 및 검액과 표준액의 제조

건강(*Zingiberis Rhizoma*, *Zingiberis officinale* Roscoe, Zingiberaceae)

(1) 포강탄

깨끗한 모래를 220℃에서 3분간 가열하고 여기에 건강 10g을 넣은 후 10분간 계속 저으면서 가열하였다. 건강 표면이 종갈색 혹은 종홍색이 될 때까지 볶은 후 꺼내어 모래를 제거하고 그늘에서 말렸다.

(2) 건강과 포강탄의 검액과 표준액의 제조

분말의 건강과 포강탄 각각 2g을 acetone 15 ml에서 30분간 초음파 추출을 하였다. 이것을 3000rpm에서 10분동안 원심분리하여 상등액을 얻고, 잔사를 3회 반복 추출하였다. 추출액을 모두 합하고 정확히 50 ml로 하였다. 지표물질 6-gingerol 3mg을 methanol 10 ml에 녹여 0.075 mg/ml, 0.15 mg/ml, 0.30 mg/ml의 농도의 검량선을 작성하였다.

산약(Dioscoreae Rhizoma, *Dioscorea japonica* Thunberg, Dioscoreaceae)

(1) 부(甞)산약 - 73℃에서 3분간 용기를 가열한 후, 가열된 용기에 보리밀기울 1g을 골고루 갈자 바로 흰 연기가 나기 시작하였다. 이 상태에서 2분간 더 가열할 때 연기의 색상이 살색에서 연갈색으로 변화하였다. 여기에 산약 10g을 넣고 8분간 볶은 후 보리밀기울을 제거하고 식힌 후 통풍이 잘되는 곳에서 건조하였다.

(2) 산약과 부(甞)산약의 검액과 표준액의 제조 - 산약과 부산약의 분말 500mg에 메탄올 10 ml를 가하고 3 시간동안 환류추출, 여과하였다. 잔사를 메탄올로 씻은 후, 감압농축하여 정확히 5 ml로 하였다. 지표물질인 allantoin 5mg을 메탄올 10 ml에 녹여 0.01mg/ml, 0.1mg/ml, 0.25mg/ml, 0.5mg/ml의 표준용액을 조제하여 각각 20 µl씩 HPLC에 투입하였다.

결과 및 고찰

건강의 지표성분인 6-gingerol의 검량선은 $Y=12533X-132.9(r^2=0.9997)$ 로 직선상으로 나타났으며(Figure 1), HPLC 크로마토그램에서 12.38분에서 확인되었다(Figure 2). 건강 중의 6-gingerol 함량은 $0.34\pm 0.01\%$ 로 나타났으며, 포강탄은 $0.430\pm 0.06\%$ 로 유의성있게 증가하였다(Table 2).

산약의 지표성분인 allantoin의 검량선은 $Y=6032.7X+17.653(r^2=0.9991)$ 로 직선상이며(Figure 3)이며 Rt는 7.67분에서 나타났으며(Figure 4), 산약과 부산약 추출물의 allantoin 피이크는 spike test로 확인하였다. 산약과 부산약 중의 allantoin의 함량은 $0.32\pm 0.06\%$, $0.23\pm 0.12\%$ 로, 수치를 통하여 감소하듯이 나타났으나 유의성 있는 변화는 아니었다(Table 2).

Table 1. Conditions of HPLC analysis

Herbal medicines	Zingiberis Rhizoma	Dioacoreae Rhozoma
HPLC condition		
Column	Lichrocart RpC ₁₈ (125×4.0 mm, 5µm)	Phenosphere NH ₂ (280×4.6 mm, 5µm)
Column temperature	25℃	25℃
Mobile phase	CH ₃ CN:H ₂ O=1:1	CH ₃ CN:MeOH=7:3
Flow rate	1.0 ml/min.	1.0 ml/min.
Detector	UV 280 nm	UV 210 nm
Injection volume	20 µl	20 µl

Table 2. Content of standard compound in herbal medicine

Herbal medicine (std. comp.)	Zingiberis Rhizoma (6-gingerol.)		Dioscoreae Rhizoma (allantoin)	
	before processing	after processing	before processing	after processing
Content (%)	0.34±0.01 (n=5)	0.42±0.09** (n=5)	0.32±0.06 (n=5)	0.23±0.12 (n=5)

** p<0.01. n means the number of samples

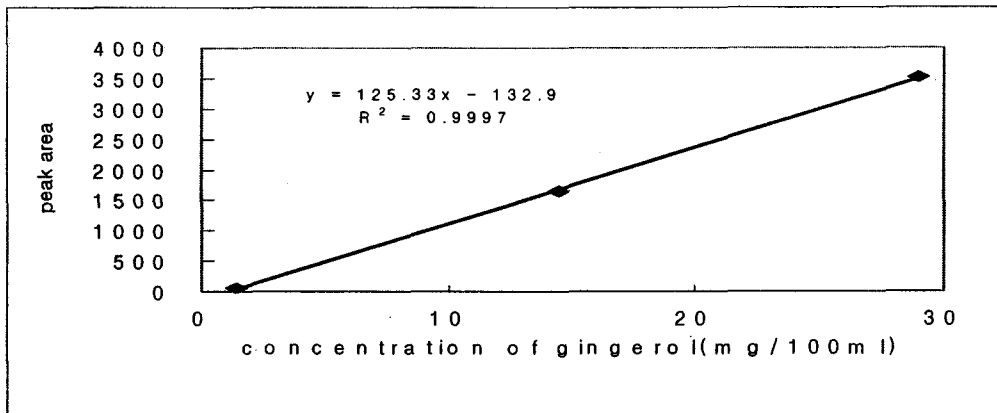


Figure 1. The calibration curve of 6-gingerol

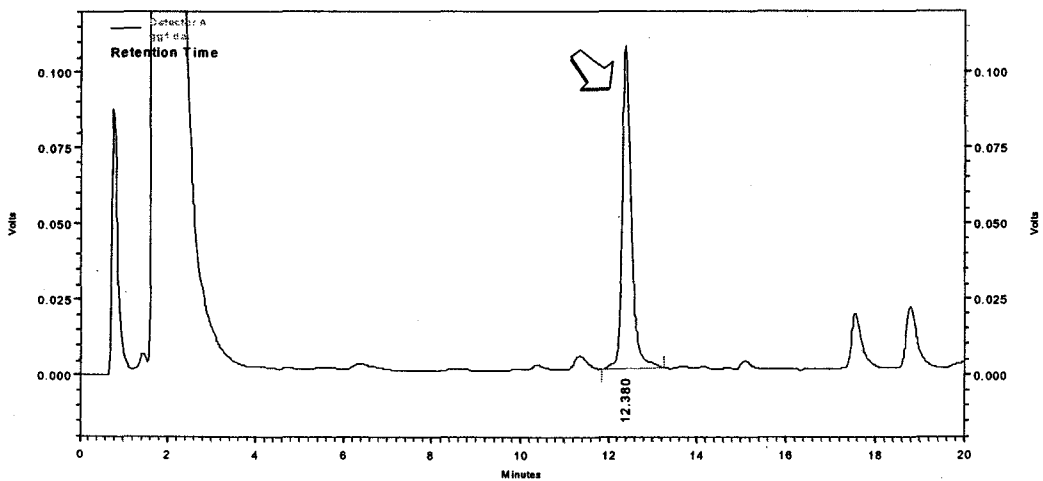


Figure 2. HPLC chromatogram of unprocessed Zingiberis Rhizoma extract

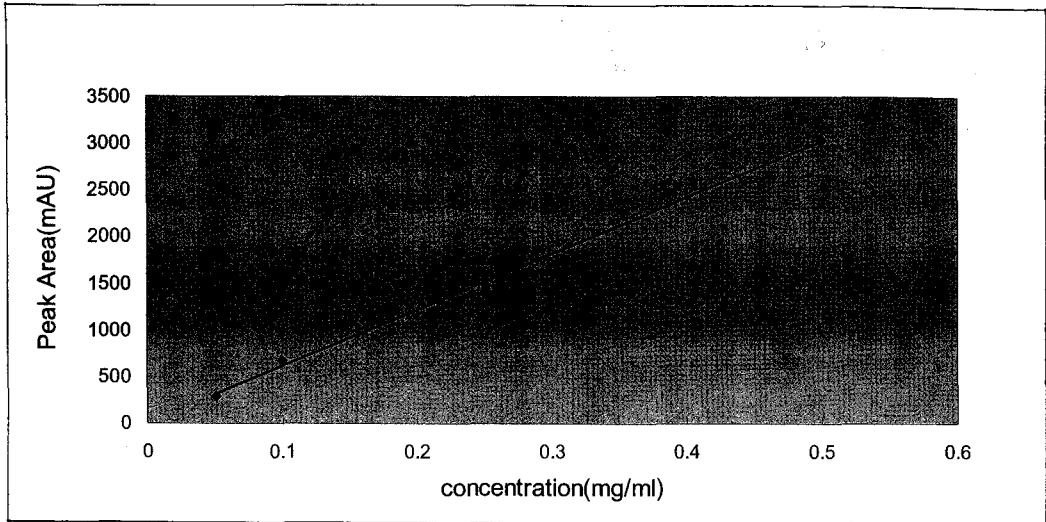


Figure 3. The calibration curve of allantoin

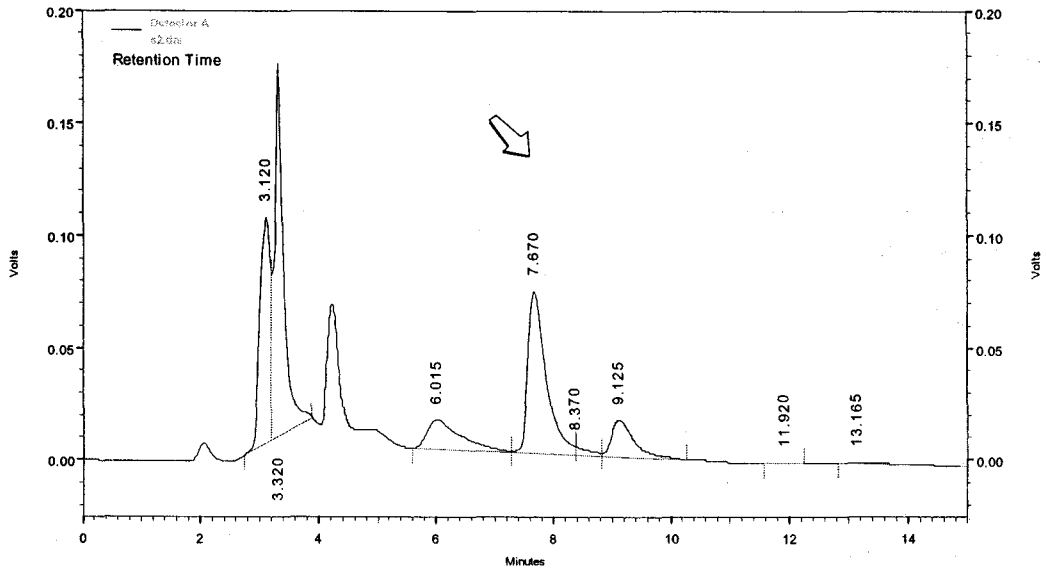


Figure 4. HPLC chromatogram of unprocessed Dioscoreae Rhizoma extract

사사

본 연구는 「보건의료기술연구개발사업(00-PJ6-PG5-00-0001)」 과 본 연구원 기관고유사업인 「한약재 수치에 관한 연구」 이며, 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. 이정훈, 강병수(1994) 『한방임상을 위한 한약포제와 응용』, 243. 영림사, 서울.
2. 국가약전위원회(2000), 『중화민국공화국약전』, I부, 22~26, 237, 271, 화학공업출판사, 북경.
3. 김진숙, 김현정, 고진희, 마진열, 이민형(2002) 『한약재 수치에 관한 연구(I)』 - 수치 전 · 후의 한약재의 표준 색도표에 의한 색상변화 -. 한국 한의학 연구원논문집, 8(1), 107. 한국한의학연구원, 서울.
4. 김진숙, 김현정, 이민형(2002) 『한약재 수치에 관한 연구(IV)』 - 수치 전 · 후의 한약재의 표준 색도표에 의한 색상변화 -. 한국 한의학 연구원논문집, 8(2), 121~124. 한국한의학연구원, 서울.
5. 김진숙, 김현정, 마진열, 김종문 (2002) 『한약재 수치에 관한 연구(II)』 - 오수유, 황기의 수치전 · 후 지표물질의 함량분석, 생약학회지, 22(4), 305~307.
6. 김진숙, 김현정, 고진희 (2002) 『한약재 수치에 관한 연구(III)』 - 후박의 수치전 · 후 Magnolol의 함량분석 및 시험관내에서 최종당화산물 생성억제 효능-생약학회지, 22(4), 305~307.
7. 김호철, 김진숙(2001) 『한약재 수치법제의 규격화연구-보건의료기술연구개발사업 최종보고서』 (00-PJ6-PG5- 00-0001).