

## 炮製에 따른 熟地黃의 糖 성분 변화 연구

권승로<sup>1</sup>, 김효근<sup>2</sup>, 함인혜<sup>1</sup>, 이재준<sup>1</sup>, 이제현<sup>3</sup>, 홍선표<sup>2</sup>, 김도훈<sup>4</sup>, 최호영<sup>1</sup>

1. 경희대학교 한의과대학 2. 경희대학교 약학대학  
3. 동국대학교 한의과대학 4. 식품의약품안전청

### Studies on the Changes of Oligosaccharide Contents in *Rehmanniae Radix preparata* According to Various Processing methods

Seung-ro Kwon<sup>1</sup>, Hyo-geun Kim<sup>2</sup>, In-hye Ham<sup>1</sup>, Jae-jun Lee<sup>1</sup>, Je-hyeon Lee<sup>3</sup>,  
Seon-Pyo Hong<sup>2</sup>, Do-hoon Kim<sup>4</sup>, Ho-Young Choi<sup>1</sup>

1 College of Oriental Medicine, Kyunghee University, Seoul, 130-701, Korea  
2 College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea  
3 College of Oriental Medicine, Dongguk University, Kyungju, 780-714, Korea  
4 Korea Food & Drug Administration, Seoul, 122-074, Korea

#### ABSTRACT

**Objective** : The 5-HMF was not index material suitable to do the quality control of *Rehmanniae Radix Preparata*. In this study, We estimated the changes of oligosaccharide contents in *Rehmanniae Radix Preparata* using high-performanc anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection(HPAEC-PAD).

**Methods** : The analysis of oligosaccharide was conducted by HPAEC-PAD with CarboPac PA1, 250×4mm, 5 $\mu$ m, and CarboPac PA1 guard column. Column temperature was kept at 30°C. Elution was carried out at 1000 $\mu$ l/min with 70mM NaOH and the injection volume was 10 $\mu$ l. Each component was detected by PAD.

**Results** : Nine constituents were found from merchandising *Rehmanniae Radix Preparata*(MR), while seven constituents were found in various processed *Rehmanniae Radix Preparata*. Not all constituents were defined but stachyose and raffinose were found in all cases. And The most common constituents of *Rehmanniae radix* was stachyose. In the course of processing, most of stachyose and raffinose were decreased. Stachyose was decreased slowly in the course of processing with rice wine(RR), amomi and rice wine(AR), and crataegi and rice wine(CR). However stachyose was decreased rapidly in the course of processing with fresh rehmannia juice(FR). The method with crataegi and rice wine(CR) showed the smallest decrease of stachyose. And processing method with crataegi and rice wine(CR) showed the most abundant amount for stachyose after the nineth processing.

**Conclusion** : The changes of oligosaccharides in the course of processing were a very important direct barometers to do the quality control and set up a standard of *Rehmanniae Radix Preparata*.

**Key words** : *Rehmanniae Radix Preparata*, oligosaccharide, stachyose, raffinose

## 서론

炮製란 修治, 炮炙라고도 하는데 약물을 醫療, 調製, 製劑 등의 수요에 의거하여 가공 처리하는 방법의 총칭이다<sup>1)</sup>. 이러한 포제를 통하여 효능을 변화시키고, 응용범위를 넓혀 다양한 임상 목적에 맞게 사용하는 대표적인 약물로 地黃이 있다.

地黃은 현삼과(Scrophulariaceae)에 속하며, 중국 북부를 원산으로 하는 다년생 초본인 지황 *Rehmannia glutinosa* Libosch과 그 재배품종인 懷慶地黃 *Rehmannia glutinosa* Libosch for. *hueichingensis* Hsiao의 덩이뿌리이다<sup>2)</sup>. 지황은 최근 우리나라 중남부지방에서 많이 재배되고 있다<sup>3-4)</sup>.

신선한 뿌리를 生地黃 혹은 鮮地黃(*Rehmanniae Radix Crudes*)이라 하며, 乾地黃(*Rehmanniae Radix*)은 生地黃을 건조하여 제조한다. 熟地黃(*Rehmanniae Radix Preparata*)은 生地黃 혹은 乾地黃을 蒸熟하여 제조한다. 熟地黃의 제조는 蒸製, 酒製, 薑製, 砂仁製 등의 여러 방법이 있으며, 그 중 酒蒸을 이용한 熟地黃의 제조가 널리 사용된다<sup>4-5)</sup>.

生地黃과 乾地黃은 <神農本草經>에 최초로 수록되어 있으나, 熟地黃은 <雷公炮炙論>에 최초로 기록되어 있다. 이후 張隱菴은 地黃의 蒸熟으로 生地黃과 熟地黃이 구분된다고 하였고, 陳修園은 九蒸九曝한 것을 熟地黃이라 이른다고 하였으며<sup>6)</sup>, <本草綱目>에서는 술에 담가 砂仁가루를 첨가하고 쪄 다음 그늘에 말리는 과정을 아홉 번 되풀이한 것이라고 하였고<sup>7)</sup>, <本草求真>에서는 地黃에 술과 砂仁가루를 함께 넣고 九蒸九曝을 하면 맛이 달게 되고 자색이 흑색으로 변화하고 腎經으로 직접 들어간다고 하였다<sup>8)</sup>. 이렇듯 熟地黃의 다양한 炮製法이 소개되면서 生地黃, 乾地黃, 熟地黃의 3종으로 나뉘어 사용하게 된 것이다.

生地黃은 약성이 寒하며 맛이 甘苦하며 清熱涼血, 生津止渴의 효능이 있으며 乾地黃은 약성이 涼하고 맛이 甘하고 清熱과 滋陰의 효능을 가지며 熟地黃은 약성이 微溫하고 맛이 甘하며 滋陰補血과 益精填髓의 효능이 있다<sup>3-4)</sup>.

地黃은 catalpol, dihydrocatalpol, rehmannioside 등의 iridoidal glycosides가 주요 성분이고<sup>9-15)</sup>, 그 외에 daucosterol, stachyose, amino acid, 유기산, 미량원소 및  $\beta$ -sitosterol 등이 함유되어 있으며, 熟地黃은 catalpol, rehmannin, aucubin, rehmannioside A, B, C, D, leonuride, monomelittoside, dihydrocatalpol

등을 함유하며, 그 외에 여러 종류의 당류, amino acid 와 기타 미량원소 등을 함유하고 있다고 보고되어 있다<sup>16-17)</sup>.

熟地黃의 약성 및 효능이 生地黃 및 乾地黃과 차이가 나는 것은 熟地黃의 제조과정에서 성분의 함량 변화가 수반되기 때문이라고 알려져 있다. 酒蒸과 乾燥를 되풀이하는 熟地黃의 제조과정에서 stachyose 농도는 급속히 감소되고, catalpol의 농도는 점진적으로 감소되며, iridoid glycosides들은 완전히 분해되거나 함량이 현저히 낮아지는데 비하여 다당류의 분해로 단당류 및 올리고당의 농도는 증가하고, serebroside, aseoside 및 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF) 등이 신생된다고 보고된 바 있다<sup>18-20)</sup>. 熟地黃의 품질관리를 위한 지표물질로 종전까지는 catalpol, d-mannitol, rehmannioside 등이 사용되었다. 그 중 catalpol은 生地黃과 乾地黃에도 존재하는 물질로 산지와 채취 시기별로 함량에 차이가 있으며<sup>21)</sup>, 熟地黃의 제조과정에서의 열에 의해 분해된다. 그러나, 熟地黃의 성분 중 5-HMF는 生地黃과 乾地黃에서는 거의 존재하지 않고, 熟地黃에 존재하는 특이성분으로 熟地黃의 제조과정에서 생성 증가하는 정량성이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>22-24)</sup>. 이에 대한약전에 “이 약을 건조한 것을 정량할 때 5-HMF 0.1% 이상을 함유 한다.”고 규정하여 품질관리에 적용하고 있다<sup>25)</sup>. 이에 地黃類 한약재의 품질평가와 관련하여 catalpol과 5-HMF에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나 분석방법과 추출방법이 복잡하고 연구자에 따라 많은 차이를 나타내고 있다<sup>26)</sup>. 특히 제조과정에서 蒸熟의 제조횟수를 중요시하는 熟地黃의 특성상, 품질평가에 있어서 제조과정상의 횟수를 검정하는 것은 상당히 중요하다. 하지만 熟地黃의 지표물질인 5-HMF의 함량의 비교로는 어느 정도의 제조과정을 거쳤는지를 정확하게 검정하기는 어려우며<sup>27)</sup>, 5-HMF가 地黃類이외에 꿀이나 잼, 빵 등의 열처리에서도 생성되는 등의 비특이적인 문제점을 가지고 있다<sup>28)</sup>.

따라서 熟地黃의 제조과정에서 변화되는 당류 조성의 변화를 분석하여 熟地黃의 품질평가를 위한 새로운 기준을 제시하고자 乾地黃 및 제약회사에서 대량생산을 위한 제조법에 의해 제조된 1중부터 9중까지의 熟地黃과 生地黃汁, 黃酒, 砂仁酒, 山楂酒를 보료로 사용해서 직접 제조한 1중부터 9중까지의 熟地黃에 대한 당 조성을 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)로 분석한 결과, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 연구에 사용된 熟地黃은 시중 제약회사에서 1증에서 9증까지 각각 가공된 것이다. 또한 生地黃은 경남지역에서 재배된 지황 *Rehmannia glutinosa* Libosch의 뿌리를 사용하였다. 보료 중 黃酒는 서울 탁주(주)에서, 砂仁(*Amomi Xanthioides Fructus*) 및 山楂(*Crataegi Fructus*)는 시중의 건재 약방에서 기원을 확인하고 구입하였다.

#### 1) 시약

Raffinose와 stachyose는 Sigma chemical Co.(US A) 제품을 사용하였다.

#### 2) 기기

당류 분석에 사용된 HPLC 장치로 Nanospace SI-2/3001 pump (Shiseido, Tokyo, Japan), Dionex ICS-3000 PAD detector (Dionex, USA)을 사용하였고, 동결 건조에는 EYELA FDU-2000 (Tokyo Rikakikai co. LTD, Japan)을, 초음파추출에는 Ultrasonic (JAC 4020, Hwain Tec. Seoul, Korea)을 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 熟地黃 제조

신선한 生地黃 각각 2kg에 생지황즙 300ml와 물 1,200ml를 배합하여 2시간 30분정도 蒸熟한 다음 건조하는 과정을 9차례 반복하여 1증에서 9증까지의 熟地黃(生汁熟地黃, FR)을 제조하였다. 같은 방법으로 2kg의 생지황에 2,250ml의 막걸리를 가하거나(黃酒熟地黃, RR), 2,250ml의 막걸리에 150g의 砂仁을 첨가하거나(砂仁熟地黃, AR), 2,250ml의 막걸리에 150ml의 山楂 분말을 첨가하여(山楂熟地黃, CR) 각각 1증에서 9증까지의 熟地黃을 제조하였다.

시중 제약회사에서 구입한 熟地黃(MR)은 乾地黃(MR0)에 황주(막걸리, 30%주침)를 가하여 1증시에는 24시간 동안 담근 후 농축기에서 100℃의 수증기로 3시간동안 쪄 후 열풍 건조하였고, 2증부터는 황주를 가하여 3시간동안 담근 후 농축기에서 100℃의 수증기로 3시간동안 쪄 후 열풍건조 한 것이다.

#### 2) 시료 처리

乾地黃 및 熟地黃을 잘게 갈아 증류수 30ml에 넣어 40℃에서 2시간 동안 초음파추출한 후 여과(Filter paper 4, Whatman, England) 하였다. 잔사는 건조하고 곱게 갈아 증류수 20ml에 넣어 40℃에서 2시간 초음파추출한 후, 여과(Filter paper 4, Whatman, England) 하였다. 이렇게 모아진 추출액을 동결 건조시켜 시료를 만들었다. 시료는 증류수에 녹여(10mg/ml) 희석하였으며, injection 직전에 MFS-13(pore size 0.20)으로 여과해 HPLC 분석을 행하였다.

#### 3) HPLC 분석 조건

HPLC용 column은 Dionex Carbopac PA1, 250×4mm, 5μm (Dionex, USA)을, guard column은 Dionex Carbopac PA1 guard (Dionex, USA)을 사용하였고, 컬럼 온도는 30℃로 유지하였다. 유출용액은 70mM NaOH (Fisher, USA)을 사용하였으며, 유속은 1,000μl/min, injection volume은 10μl였다. 각 성분은 Dionex ICS-3000 Detector(Dionex, USA)로 검출하였다.

## 결 과

### 1. 시판 熟地黃(MR)의 증수에 따른 당의 조성 및 함량 변화

1증에서 9증까지의 시판 숙지황(MR)에 함유된 당류를 분석한 결과, 유출시간이 1분, 2분, 3분, 4.3분, 5.5분, 6.8분, 8.5분, 15.33분, 18분 등 총 9개의 성분이 검출되었으며 숙지황에서 분리되는 각 성분을 검정하기 위해서, 동일한 조건에서 각종 당류 표준물질들을 HPLC 분석하였으며, 확인결과 유출시간이 15.3분인 peak는 raffinose임이, 18분인 peak는 stachyose임이 확인되었다. (Figure 1, 2)

1증에서 9증까지의 시판 숙지황(MR)에서 검출된 당류의 함량은 Table 1과 같았다. 그 중 raffinose의 함량은 건지황에서는 4.0%였는데 1증에서 6.4%로 증가하였다가 이후에는 3증에서 3.0%, 5증에서는 0.8%로 함량이 점진적으로 감소하다가 6증 이후에는 전혀 검출되지 않았다. Stachyose의 함량은 건지황에서 55.1%로 가장 높았는데 1증에서는 53.5%, 3증에서는 18.7%, 5증에서는 17.1%였고 7증 이후에 현저히 감소하여 9증에서는 2.3%였다. 그림 1에서 보면, 유출시간이 8.5분인 당은 증수가 증가함에 따

라 함량이 점점 증가하다가 7중 이후 급격히 증가함을 알 수가 있다. 그 밖의 peak에서는 증수가 증가함에 따라 함량이 조금씩 증가하거나 별다른 변화가 없음을 알 수 있다. 이상의 결과 증수가 증가할수록 raffinose, stachyose의 함량은 감소하고 유출시간이 8분에 해당하는 당의 함량은 증가함을 알 수 있다.

Table 1. Concentration Changes of Raffinose and Stachyose in Rehmanniae Radix and Merchandising Rehmanniae Radix Preparata

%	MR0	MR1	MR2	MR3	MR4	MR5	MR6	MR7	MR8	MR9
Raffinose	4.0	6.4	5.9	3.0	2.2	0.8	0	0	0	0
Stachyos	55.1	53.5	38.9	18.7	18.8	17.1	26.7	5.6	4.1	2.3
e										

MR0 ; Rehmanniae Radix.

MR1~MR9 ; Rehmanniae Radix Preparata steamed from 1st to 9 times.

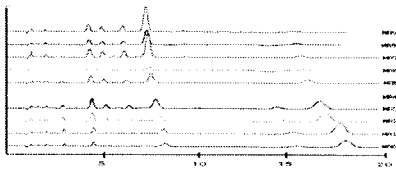


Figure 1. Chromatogram of Rehmanniae Radix (MR0) merchandising Rehmanniae Radix Preparata(MR1-MR9).

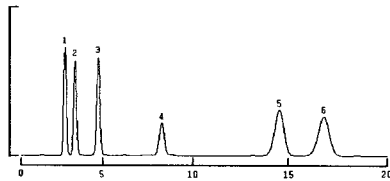


Figure 2. Chromatogram of oligosaccharide standards.

1: Mannitol 2: Rhamnose 3: Galactose 4: Sucrose 5: Raffinose 6: Stachyose

## 2. 生汁熟地黄(FR)의 증수에 따른 당의 조성 및 함량 변화

1중에서 9중까지의 生汁熟地黄(FR)에 함유된 당류를 분석한 결과, 유출시간이 1.6분, 2.4분, 4.2분, 4.7분, 7분, 12.3분, 14.5분 등 총 7개의 성분이 검출되었으며 표준물질로 확인결과 유출시간이 12.3분인 peak는 raffinose임이, 14.5분인 peak는 stachyose임이 확인되었다.(Figure 3)

1중에서 9중까지의 生汁熟地黄(FR)에서 검출된 당류의 함량은 Table 2와 같았다. Peak 1에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 3.7%~3.4%로 증수에 따른 함량의 변화가 거의 없었다. Peak 2에 해당하는 당류는 1, 2중에서 5.4%, 3.8%의 함량을 나타내다가 3중에서 0.5%로 급격히 감소한 뒤 거의 검출되지 않았다. Peak 3에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 1.0%에서 16.3%로 점진적으로 증가하였다. Peak 4에 해당하는 당류는 1중에서 1.1%의 함량을 나타내다가 3중에서 급격히 증가하여 20.1%였고 그 이후에는 증가폭이 크지 않아 9중에서 28.1%였다. Peak 5에 해당하는 당류는 1중에서 11.3%, 3중에서는 34.5%, 5중~9중에서 42.1%~47.8%로 점진적으로 함량이 증가하였다. Raffinose의 함량은 1중에서 1.8%, 3중에서 1.6%로 함량이 점진적으로 감소하다가 7중 이후에는 전혀 검출되지 않았다. Stachyose는 1중에서 75.7%로 가장 함량이 높았는데 3중에서는 31.7%로 함량의 급격한 감소가 있었고, 7중에서도 6.2%로 함량이 현저히 감소하였고 9중에서는 4.3%였다. 이상의 결과 증수가 증가할수록 peak 2에 해당하는 당, raffinose, stachyose의 함량은 감소하고 peak 3, 4, 5에 해당하는 당의 함량은 증가함을 알 수 있다.

Table 2. Concentration Changes of Raffinose, Stachyose and Other Oligosaccharides in Rehmanniae Radix Preparata Stemed with Fresh Rehmanniae Radix Juice. (Area %)

	Peak					Raffinose	Stachyose
	Mannitol	2	3	4	5		
FR	3.7	5.4	1.0	1.1	11.3	1.8	75.7
1 FR	2.7	3.8	2.8	3.1	11.9	2.6	73.1
2 FR	2.9	0.5	8.7	20.1	34.5	1.6	31.7
3 FR	4.5	0.4	13.9	23.2	32.0	0.7	20.3
4 FR	2.7	0.6	7.2	11.5	48.5	0.8	28.6
5 FR	2.8	0.3	9.3	24.6	42.1	0.6	20.2
6 FR	4.3	0.4	10.1	31.7	47.3	0	6.2
7 FR	2.8	0	10.1	28.0	48.0	0	11.2
8 FR	3.4	0	16.4	28.1	47.8	0	4.3
9							

2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide

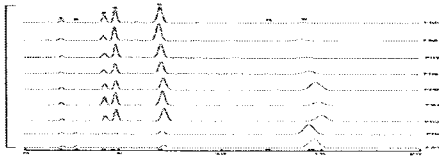


Figure 3. Chromatogram of Rehmanniae Radix Preparata stemmed with Fresh Rehmanniae Radix Juice.

1: Mannitol 2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide R: Raffinose S: Stachyose

### 3. 黃酒熟地黃(RR)의 증수에 따른 당의 조성 및 함량 변화

1증에서 9증까지의 黃酒熟地黃(RR)에 함유된 당류를 분석한 결과, 유출시간이 2.1분, 3분, 4.3분, 5.2분, 7.7분, 13.8분, 16.5분 등 총 7개의 성분이 검출되었으며 표준물질로 확인결과 유출시간이 13.8분인 peak는 raffinose임이, 16.5분인 peak는 stachyose임이 확인되었다.(Figure 4)

1증에서 9증까지의 黃酒熟地黃(RR)에서 검출된 당류의 함량은 Table 3와 같았다. Peak 1에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이 2.7%~2.6%로 증수에 따른 함량의 변화가 거의 없었다. Peak 2에 해당하는 당류는 점진적으로 감소하여 1증에서 6.4%, 3증에서 2.1%, 5증에서는 1.9%의 함량을 나타내다가 7증 이후에는 거의 검출되지 않았다. Peak 3에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이 1.4%에서 9.6%로, Peak 4에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이 0.8%에서 23.3%로, Peak 5에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이 7.7%에서 37.7%로 각각 점진적으로 감소하였다. Raffinose의 함량은 1증에서 3.4%, 3증에서 1.7%로 함량이 점진적으로 감소하다가 7증 이후에는 전혀 검출되지 않았다. Stachyose는 1증에서 77.8%로 가장 함량이 높았는데 증수가 증가할수록 함량이 점진적으로 감소하여 3증에서는 66.1%, 5증에서는 57.2%, 9증에서는 26.5%였다. 이상의 결과 증수가 증가할수록 peak 2에 해당하는 당, raffinose, stachyose의 함량은 감소하고 peak 3, 4, 5에 해당하는 당의 함량은 증가함을 알 수 있다.

Table 3. Concentration Changes of Raffinose, Stachyose and Other Oligosaccharides Stemed with Rice Wine (Area %)

RR	Peak					Raffino se	Stachy ose
	Mann itol	2	3	4	5		
1	2.7	6.4	1.4	0.8	7.7	3.4	77.8

RR	3.0	3.5	1.5	2.2	9.9	2.1	77.8
2 RR	2.6	2.1	3.5	7.2	16.8	1.7	66.1
3 RR	2.6	1.4	5.3	10.5	21.4	2.1	56.8
4 RR	3.1	1.9	4.5	10.1	21.6	1.6	57.2
5 RR	2.6	1.2	6.1	13.4	25.7	1.6	49.4
6 RR	2.3	0	7.4	26.2	39.9	0	24.2
7 RR	2.3	0.1	9.3	22.4	37.4	0	28.6
8 RR	2.6	0.3	9.6	23.3	37.7	0	26.5
9							

2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide

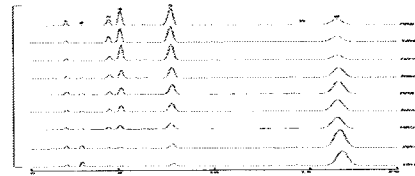


Figure 4. Chromatogram of Rehmanniae Radix Preparata steamed with rice wine.

1: Mannitol 2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide

R: Raffinose S: Stachyose

### 4. 砂仁熟地黃(AR)의 증수에 따른 당의 조성 및 함량 변화

1증에서 9증까지의 砂仁熟地黃(AR)에 함유된 당류를 분석한 결과, 유출시간이 1.6분, 2.4분, 4.2분, 4.7분, 7분, 12.3분, 14.5분 등 총 7개의 성분이 검출되었으며 표준물질로 확인결과 유출시간이 12.3분인 peak는 raffinose임이, 14.5분인 peak는 stachyose임이 확인되었다.(Figure 5)

1증에서 9증까지의 砂仁熟地黃(AR)에서 검출된 당류의 함량은 Table 4과 같았다. Peak 1에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이 3.5%~3.2%로 증수에 따른 함량의 변화가 거의 없었다. Peak 2에 해당하는 당류는 점진적으로 감소하여 1증에서 5.2%, 3증에서 2.2%, 5증에서는 1.6%의 함량을 나타내다가 8증 이후에는 거의 검출되지 않았다. Peak 3에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이 1.4%에서 10.2%로, Peak 4에 해당하는 당류는 1~9증에서의 함량이

0.8%에서 28.3%로, Peak 5에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 9.3%에서 47.6%로 각각 점진적으로 증가하였다. Raffinose의 함량은 1중에서 2.9%, 3중에서 1.6%, 7중에서 1.2%로 함량이 점진적으로 감소하다가 9중에서는 전혀 검출되지 않았다. Stachyose는 1중에서 77.0%로 가장 함량이 높았는데 증수가 증가할수록 함량이 점진적으로 감소하여 3중에서는 58.7%, 5중에서는 44.4%, 9중에서는 10.7%였다. 이상의 결과 증수가 증가할수록 peak 2에 해당하는 당, raffinose, stachyose의 함량은 감소하고 peak 3, 4, 5에 해당하는 당의 함량은 증가함을 알 수 있다.

Table 4. Concentration Changes of Raffinose, Stachyose and Other Oligosaccharides Stemed with Amomi and Rice Wine (Area %)

	Peak					Raffinose	Stachyose
	Mannitol	2	3	4	5		
AR	3.5	5.2	1.4	0.8	9.3	2.9	77.0
1 AR	3.1	3.8	2.2	3.2	11.7	1.9	74.1
2 AR	3.3	2.2	5.0	8.6	20.4	1.6	58.7
3 AR	3.2	1.4	7.4	13.5	25.5	2.6	46.4
4 AR	3.5	1.6	8.5	13.6	26.8	1.5	44.4
5 AR	3.2	0.5	6.8	17.3	32.5	0.9	38.9
6 AR	2.5	1.1	6.1	14.9	30.0	1.2	43.6
7 AR	2.7	0.1	9.6	24.1	40.0	0.8	23.3
8 AR	3.2	0	10.2	28.3	47.6	0	10.7
9							

2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide

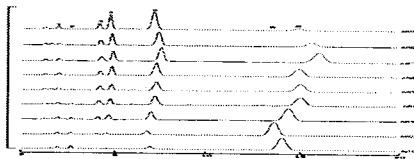


Figure 5. Chromatogram of Rehmanniae Radix Preparata steamed with amomi and rice wine.

1: Mannitol 2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide  
R: Raffinose S: Stachyose

### 5. 山楂熟地黄(CR)의 증수에 따른 당의 조성 및 함량 변화

1중에서 9중까지의 山楂熟地黄(CR)에 함유된 당류를 분석한 결과, 유출시간이 1.6분, 2.4분, 4.2분, 5분, 7분, 13.8분, 15.4분 등 총 7개의 성분이 검출되었으며 표준물질로 확인결과 유출시간이 13.8분인 peak는 raffinose임이, 15.4분인 peak는 stachyose임이 확인되었다.(Figure 6)

1중에서 9중까지의 山楂熟地黄(CR)에서 검출된 당류의 함량은 Table 5와 같았다. Peak 1에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 4.4%에서 2.4%로 증수 따라 함량이 점진적으로 감소하였다. Peak 2에 해당하는 당류는 점진적으로 감소하여 1~9중에서의 함량이 5.7%에서 0.6%였다. Peak 3에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 1.5%에서 7.2%로, Peak 4에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 0.9%에서 16.4%로, Peak 5에 해당하는 당류는 1~9중에서의 함량이 8.9%에서 30.0%로 각각 점진적으로 증가하였다. Raffinose는 1~9중에서의 함량이 2.6%에서 1.0%로 점진적으로 감소하였다. Stachyose는 1중에서 77.0%로 가장 함량이 높았는데 이 후에도 증수가 증가할수록 함량은 크게 감소하지 않아 5중에서는 66.6%, 9중에서는 42.2%였다.

이상의 결과 증수가 증가할수록 peak 1, 2에 해당하는 당, raffinose, stachyose의 함량은 감소하였으나 그 중 stachyose는 다른 보료를 사용하여 제조했을 때와는 달리 잘 분해되지 않아 9중에서도 많은 양이 남아있었다. peak 3, 4, 5에 해당하는 당의 함량은 증가함을 알 수 있다.

Table 5. Concentration Changes of Raffinose, Stachyose and Other Oligosaccharides Stemed With Crataegi and Rice Wine (Area %)

	Peak					Raffinose	Stachyose
	Mannitol	2	3	4	5		
CR	4.4	5.7	1.5	0.9	8.9	2.6	76.0
1 CR	2.8	4.0	1.6	1.7	9.2	1.9	78.9
2 CR	3.6	3.5	2.6	3.2	13.1	2.7	71.9
3 CR	2.6	4.8	4.7	5.0	13.8	2.3	66.7
4							

CR	2.6	3.2	4.0	5.2	16.5	1.9	66.6
5 CR	1.8	3.2	5.9	7.6	18.6	2.5	60.4
6 CR	3.7	0.2	7.5	17.7	29.0	1.0	40.8
7 CR	2.3	1.1	8.0	14.3	26.7	1.4	46.1
8 CR	2.4	0.6	7.2	16.4	30.0	1.0	42.2
9							

2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide

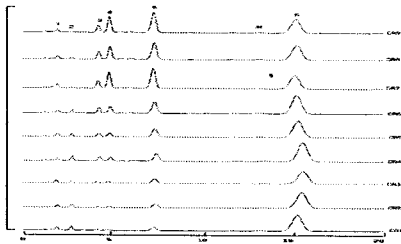


Figure 6. Chromatogram of Rehmanniae Radix Preparata steamed with crataegi and rice wine.

1: Mannitol 2: Monosaccharide 3: Monosaccharide 4: Disaccharide 5: Trisaccharide R: Raffinose S: Stachyose

## 고찰

지황 *R. glutinosa* 은 현삼과(Scrophulariaceae)에 속하는 다년생 초본으로, 가공법에 의해 生地黃, 乾地黃, 熟地黃 등으로 대별된다. 生地黃은 신선한 지황을 모래에 저장한 것이고, 乾地黃은 竹刀로 去皮하고 陽乾한 지황의 뿌리이며, 熟地黃의 제조방법으로는 蒸製, 酒製, 薑製, 砂仁製, 山楂製 등 여러 방법이 있으며 그중에서 酒蒸을 이용한 熟地黃의 제조가 널리 사용된다<sup>4-5)</sup>. 熟地黃의 제조방법에 대하여 <本草綱目>에서는 九蒸九曝이라하여 蒸熟을 수회 반복하여 제조함을 기록되어 있으며, 소화 장애를 없애기 위해 酒를 보료로 하여 炒하면 胃를 방해하지 않는다고 하였고, 砂仁을 보료로 첨가하면 오장의 衝和의 氣를 화합하고 丹田에 돌려보낼 수 있다고 하였으며 薑汁으로 炒하면 泥膈하지 않는다 하였다<sup>7)</sup>. 이후 소화 장애 증상이 있을 때는 山楂, 神曲, 麥芽 같은 消食藥을 첨가하여 제조하기도 하였다.

地黃은 catalpol, dihydrocatalpol, rehmannioside 등의 iridoideal glycosides가 주요 성분이고<sup>9-15)</sup>, 그 외

에 daucosterol, stachyose, amino acid, 유기산, 미량 원소 및  $\beta$ -sitosterol 등이 함유되어 있으며, 熟地黃은 catalpol, rehmannin, aucubin, rehmannioside A. B. C. D, leonuride, monomelittoside, dihydrocatalpol 등을 함유하며, 그 외에 여러 종류의 당류, amino acid 와 기타 미량원소 등을 함유하고 있다고 보고 되었으며<sup>16-17)</sup>, 여러 가지 생리활성이 계속해서 연구 되고 있는 중요한 한약재 중의 하나이다.

본 실험에서는 다양한 보료에 의한 熟地黃의 당류 함량 변화를 연구하고자 하였다. 또한 제약회사에서 대량으로 제조되는 제품과 비교하여 소량으로 제조된 熟地黃과 품질의 동질성을 확인하고자 하였다. 그러므로 제약회사에서 黃酒를 보료로 하여 대량으로 제조되는 熟地黃과 生地黃에 生地黃汁, 黃酒, 黃酒에 砂仁첨가, 黃酒에 山楂를 첨가하여 각각 제조되는 熟地黃의 성분 중 특히 당류 조성 및 함량변화를 비교하였다.

지금까지 熟地黃의 성분변화에 대한 연구에서는 주로 熟地黃의 지표물질인 5-HMF의 함량변화를 측정하였다. 5-HMF는 세포독성원, 돌연변이원 및 암 유발원으로써의 가능성이 제기되고 있다<sup>33)</sup>. 따라서 이러한 물질이 많이 생성되는 것은 熟地黃 제조 및 보관에 바람직한 일이라고 생각하지는 않는다. 대한 약전에 따르면 熟地黃의 5-HMF 함량은 0.1% 이상을 함유하고 있는 것으로 규정하고 있는데<sup>25)</sup>, 연구자에 따라 증수에 따른 함량이 차이가 났다. 이 등<sup>23)</sup>은 4 중 이상에서 5-HMF의 함량이 0.1% 이상 나타난다고 보고하였으며, 황 등<sup>22)</sup>은 5-HMF의 함량이 0.1% 이상인 경우는 3중 정도에 해당한다고 하였고, 이 등<sup>29)</sup>은 5-HMF의 함량이 0.1% 이상인 경우는 7중 이상에서 해당된다고 보고하였다. 이렇듯 5-HMF가 熟地黃의 지표물질이긴 하지만 5-HMF의 함량만으로는 어느 정도의 蒸熟과정을 거쳤는지를 정확하게 검정하기는 어렵다. 따라서 비록 지표물질이긴 하지만 5-HMF의 함량만으로는 熟地黃의 품질을 평가하고 나아가 보다 우수한 熟地黃을 제조, 개발하고 유통하는 데는 무리가 따르므로 熟地黃에 상당량 함유된 당류 등의 주성분에 대한 정량적인 기준을 정하거나 효능이 객관적으로 인정될 수 있는 유효물질에 대한 검정이 필요하다고 사료된다.

熟地黃의 제조과정인 酒蒸 및 건조과정에서 단백질과 지질은 대부분 파괴되거나 변성되거나 제거되리라고 추정되기 때문에 乾地黃과 熟地黃의 약성 차이를 유발하는 주된 성분은 당류라고 생각된다. 乾地黃에 함유된 당류들 중에서 galactose-galactose-

glucose-fructose로 이루어진 사당류인 stachyose와 galactose-glucose-fructose로 이루어진 삼당류인 raffinose의 함량은 증수가 증가함에 따라 감소하게 된다<sup>28)</sup>. 乾地黃에 가장 많이 함유된 당류인 stachyoses는 1, 2중에서는 눈에 띄는 감소가 나타나지 않으나 3중 이상에서는 확연한 감소가 나타난다. 生地黃汁을 사용해 蒸熟을 한 경우에는 급격히 stachyose가 감소하고, 黃酒를 사용한 경우에는 서서히 stachyose가 감소한다. 이는 黃酒에 砂仁을 첨가한 경우에도 비슷한 감소 양상을 보였다. 제약회사에서 제조한 경우나 직접 제조한 경우에서도 비슷한 양상으로 나타났다. 단, 山楂분말을 첨가하여 제조한 熟地黃에서는 stachyose가 잘 분해되지 않아 다른 패턴으로 나타났다. 또한 1~2중 과정에서는 별로 검출되지 않던 일부 당류들은 증수가 높아짐에 따라 급격히 증가하는 양상을 보이는데 이는 사당류인 stachyose가 분해되어 단당, 이당 및 삼당류가 생성된다고 추측할 수 있다. 이 당의 성분에 대해서는 향후 추가 연구가 요구된다. 이러한 실험결과는 시 등<sup>30)</sup>의 보고에서 증수가 증가함에 따라 stachyose, raffinose의 함량이 감소할 뿐만 아니라 단당류나 이당류들도 蒸熟을 반복함에 따라 분해되어 점진적으로 감소한다고 발표한 내용과는 차이가 있다. 향후 심도 깊은 비교 연구가 요구되는 부분이다.

이상의 실험결과에서 熟地黃이 어느 정도의 蒸熟 과정을 거쳤는지는 이러한 당류성분의 함량 분석을 통해서 검정할 수가 있으며 중국약전의 경우는 熟地黃을 1~2중만을 요구하고 있고<sup>2)</sup>, 시 등<sup>30)</sup>의 보고에서는 熟地黃의 제조과정인 蒸熟과정에서 乾地黃과 熟地黃의 약성 차이를 유발하는 주된 성분은 당류이며, 당류 조성의 변화가 1중에서는 크게 변화하지만 2중이상의 제조과정에서는 각 당류의 분해되는 속도가 현저하지 못하며 그 결과로 각 당류의 함량이 점차로 저하되지만 그 저하 폭이 크지 않고 당류의 조성이 2중에서 9중까지 거의 유사하므로 熟地黃의 제조과정은 2중 정도만 실시하여도 그 약성은 9중의 熟地黃과 큰 차이가 없으리라 보고하였다. 그러나 본 실험결과에서는 熟地黃의 약성 차이를 유발하는 주된 성분인 당류의 성분 변화가 일정한 증수에서 급격히 변하거나 또는 함량변화 이후에는 별다른 변화가 없거나 하지 않고 증수가 증가할수록 당 함량의 변화가 점진적으로 이루어짐으로 인해 1~2중만 시행한 熟地黃과 9중까지 시행한 熟地黃과는 분명한 차이가 있으리라고 사료된다.

熟地黃은 예로부터 九蒸九曝를 하여 제조를 하였

고, 이 과정에서 涼한 氣가 溫하게 되고 苦한 味가 甘하게 된다고 알려졌는데, 본 실험 결과, 증을 할수록 당류의 함량 변화가 발생하므로 九蒸九曝를 통해서 약성의 변화가 유발될 수 있으리라는 것을 명확히 알 수 있었다. 따라서 시중에 유통되고 있는 熟地黃에 대해서도 몇 차례에 걸쳐서 蒸熟을 했는지를 명확하게 판정할 수가 없는 지표물질인 5-HMF를 0.1%이상 함유하고 있는 것만을 기준으로 삼을 것이 아니라 熟地黃에 상당량이 함유되어 있어 증수에 따른 함량의 변화로 인해 숙지황의 효능에 중요한 영향을 끼치는 당류 성분에 대한 정량적인 기준을 아울러 정해 품질관리 및 평가의 지표로 삼아야 한다고 사료된다.

## 결론

乾地黃과 熟地黃의 약성 차이를 유발하는 주된 성분이 당류라고 생각되어 熟地黃의 제조과정에서 발생하는 당류 함량의 변화를 분석하여, 熟地黃의 품질평가와 관리를 위한 새로운 기준을 제시하고자 乾地黃 및 제약회사에서 제조된 1중부터 9중까지의 熟地黃과 生地黃汁, 黃酒, 砂仁酒, 山楂酒를 보료로 사용해서 직접 제조한 1중부터 9중까지의 熟地黃에 대한 당 함량 변화를 고압액체크로마토그래피(HPLC)법으로 비교 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 시판 숙지황에서는 총 9개, 다양한 보료를 사용하여 직접 제조한 숙지황에서는 총 7개의 성분이 검출되었으며 검출된 성분 중에서 stachyose와 raffinose를 확인하였다.
2. 乾地黃에서 가장 많이 함유된 당류는 stachyose였다.
3. Stachyose는 熟地黃의 제조과정이 진행됨에 따라 감소하였다.
4. Stachyose는 보료가 黃酒, 砂仁酒, 山楂酒인 경우에는 점진적으로 감소하였고, 生地黃汁인 경우에는 급속히 감소하였다.
5. Stachyose는 山楂酒를 보료로 하여 제조한 熟地黃에서는 점진적으로 감소하였으나 다른 보료를 사용했을 때에는 다르게 잘 분해되지 않아 9중 熟地黃에서도 상당량이 존재하였다.

熟地黃의 蒸熟이 진행됨에 따라 단당, 이당류 및 삼당류에 해당하는 당류들이 증가하는데 이는 사당류인 stachyose가 분해되면서 생성된 것으로 추측된



다. 이는 기존의 연구에서 증수가 증가함에 따라 stachyose, raffinose의 함량뿐만 아니라 단당류나 이당류들도 분해되어 감소한다고 발표한 내용과는 차이가 있어 향후 심도 깊은 비교 연구가 요구된다.

결론적으로 地黃의 증수가 증가함에 따라 당 성분 함량의 변화가 점진적으로 나타나므로 蒸熟 횟수에 따른 熟地黃의 효능의 차이가 있으리라 생각되며 이러한 실험의 결과, 당류 성분에 대한 정량적인 기준을 정하는 것은 地黃의 품질 평가와 관리에 중요한 지표를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

### 감사의 말씀

이 논문은 2007년도 2단계 두뇌한국21사업에 의하여 지원(또는 연구)되었음.

### 참고문헌

1. 안덕균, 김호철. 한약포제학. 서울:일지사. 2000:17-19.
2. 國家藥典委員會. 中華人民共和國藥典. 北京:化學工業出版社. 2005:82-3.
3. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울:영림사. 1995:190-2.
4. 國家中醫藥管理局 中華本草編委會. 中華本草 7卷. 上海:上海科學技術出版社. 1999:376-89.
5. 강병수, 서부일, 최호영. 한약 포제와 임상응용. 서울:영림사. 2003:205-10.
6. 張隱菴, 葉天士, 陳修園. 本草三家合註. 서울:성보출판사. 1981:89.
7. 李時珍. 本草綱目. 北京:人民衛生出版社. 1981:1021.
8. Zhang liping, Li Jun, Zhang Zhenling, Wang Lei. A study on the historical change of preparation method of Radix Rehmanniae Preparata. Journal of Henan University of Chinese Medicine. 2005;20(2):69-71.
9. Haruji Oshio, Hiroyuki Inouye. Iridoid glycosides of Rehmannia glutinosa. Phytochemistry. 1981;21(1):133-8.
10. Hiroaki Nishimura, Hiroshi Sasaki, Takashi Morota, Masao Chin, Hiroshi Mitsuhashi. Six iridoid glycosides from Rehmannia glutinosa, Phytochemistry. 1989;28(10):2705-9.
11. Takashi Morota, Hiroshi Sasaki, Hiroaki Nishimura, Ko Sugama, Masao Chin, Hiroshi Mitsuhashi. Two iridoid glycosides From Rehmannia glutinosa. Phytochemistry. 1989;28(8):2149-53.
12. Hiroaki Nishimura, Hiroshi Sasaki, Takashi Morota, Masao Chin, Hiroshi Mitsuhashi. six glycosides From Rehmannia glutinosa var. purpurea. Phytochemistry. 1990;29(10):3303-6.
13. Hiroshi Sasaki, Hiroaki Nishimura, Masao Chin, Hiroshi Mitsuhashi. Hydroxycinnamic acid esters of phenethylalcohol glycosides from Rehmannia glutinosa var. purpurea. Phytochemistry. 1989;28(3):875-9.
14. Yukihiro Shoyama, Masami matsumoto, Itsuo Nishioka. Phenolic glycosides from diseased roots of Rehmannia glutinosa var. purpurea. Phytochemistry. 1987;26(4):983-7
15. Yukihiro Shoyama, Masami matsumoto, Itsuo Nishioka. Four caffeoyl glycosides from Callus tissue of Rehmannia glutinosa. Phytochemistry . 1986;25(7):1633-6.
16. 김호철. 한약약리학. 서울:집문당. 2004:143-5,467-9.
17. Li Jun, Zhang Liping, Zhang zhenling. Recent development of Radix Rehmanniae. Journal of Henan University of Chinese Medicine. 2005;20(6):79-83.
18. 박창렬, 임종익, 류경수. 지황류 생약 및 그 제제 중의 Catalpol 함량. 경희약대논문집. 1987;15:93-8.
19. 홍선표, 김용철, 김경호, 박정일, 박만기. 숙지황 건조지황 및 생지황 중 숙지황의 특이성분 검색. Journal of the Korean Society of Analytical Science. 1993;6(4):401-4.
20. Wen Xuesen, Yang Shilin, Ma Xiaojun, Zheng Junhua. HPLC chromatogram changes with processing for roots of Radix Rehmanniae. Chinese Traditional and Herbal Drugs. 2004;35(2):153-6.
21. 김남재, 정은아, 김희정, 심상범, 김종우. 지황의 품질평가. 생약학회지. 2000;31(2):130-41
22. 황석연, 황방연, 최우희, 정한진, 허재두, 이경순, 노재섭. 수지에 따른 숙지황 중의 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde 함량분석. 생약학회지. 2001;32(2): 116-20.

23. 이제현, 고정아, 황은영, 홍선표. 숙지황의 포제에 따른 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde 함량 연구. 대한본초학회지. 2002;17(2):145-9.
24. Lijun, Zhang li-ping, Liu Wei, Zhang Zhen ling, Liu li-juan. Studies on the changes of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde content in Radix Rehmanniae steamed for different time. China Journal of Chinese Materia Media. 2005;30(18):1438-40.
25. 한국약학대학협의회 약전분과회 편. 대한약전 제8개정 해설서. 서울:신일상사. 2003:1166
26. 주매분, 홍선표, 김정숙, 이제현. HPLC를 이용한 지황의 분석 방법 연구. 대한본초학회지. 2003;18(3):203-9.
27. 이영중. 시판 숙지황 제제의 성분 정량에 관한 연구. 대한본초학회지. 1998;13(2):1-6.
28. Teixidó E, Santos FJ, Puignou L, Galceran MT. Analysis of 5-hydroxymethyl furfural in foods by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatograph A. 2006;1135(1):85-90.
29. 이종기, 서정미. 숙지황 제조과정에 따른 성분 함량의 변화. 한국식품영양과학회지. 2004;33(10):1748-52.
30. 시진국, 손영중, 이영중. 숙지황제조 방법에 따른 당류함량의 변화. 대한본초학회지. 1999;4(2):1-11.