

Cinnamic acid, Cinnamaldehyde의 부위별 정량을 통한 桂枝의 飲片 규격 연구

김영식¹, 이금산², 김정훈³, 최고야³, 정승일⁴, 조수인², 주영승¹, 김홍준^{1*}

1 : 우석대학교 한의과대학, 2 : 부산대학교 한의학전문대학원, 3 : 한국한의학연구원, 4 : 전주생물소재연구소

A Study of Cutting Methods by Comparing the Contents of Cinnamic acid and Cinnamaldehyde in Different Parts of Cinnamomi Ramulus

Young-Sik Kim¹, Guem-San Lee², Jung-Hoon Kim³, Goya Choi³, Seung-Il Jeong⁴, Su-In Cho², Young-Sung Ju¹, Hong-Jun Kim^{1*}

1 : College of Oriental Medicine, Woosuk University

2 : School of Korean Medicine, Pusan National University

3 : Korea Institute of Oriental Medicine

4 : Jeonju Biomaterials Institute

ABSTRACT

Objectives : In the present study, the contents of cinnamic acid and cinnamaldehyde in three different parts of Cinnamomi Ramulus (CR) (the whole body, the bark part, and the wood part) was evaluated using UPLC (ultra performance liquid chromatography) in order to investigate a suitable cutting method.

Methods : Analysis was performed on SMART LC with UV detector. Reference compounds were separated on Inertsil ODS-4 column (2.1 mm × 50 mm, 3 μm, GL Science, Japan) using isolation elution with water and acetonitrile each containing acetic acid at a flow rate of 500 μL/min. Additionally, samples of CR were purchased from pharmacy of medicinal herb.

Results : The correlation coefficients of the cinnamic acid and cinnamaldehyde levels showed good linearity ($r^2 \geq 0.9999$) over the linear ranges. Furthermore, the bark part exhibited higher concentration levels of reference compounds than the wood part in all samples. In addition the bark exfoliation rates in oblique and perpendicular-long cut samples of CR were lower than the perpendicular-short cut samples.

Conclusions : These results suggested that the optimal cutting method would be able to reduce the bark exfoliation. Therefore, the oblique or perpendicular-long cutting method is considered to be a better cutting type than the perpendicular-short cutting method.

Key words : *Cinnamomum cassia*, Cinnamic acid, Cinnamaldehyde, Cutting method, UPLC

서론

한약재는 그 기원뿐만 아니라 採集과 貯藏, 炮製 등에 의하여 성분함량 등의 품질 차이가 발생하며, 이는 곧 약효의 발현에 영향을 미친다¹⁾. 그러므로 채취한 한약재의 효능을 최대한 확보하기 위하여 각 한약재에 대한 가공방법이 고대로부터 경험적으로 집약되어 ‘炮製’라는 분야로 정립되었다. 그중 飲片은 한약재의 煎出·炮製·製制·調制·鑑別 등의

목적²⁾에 따라 한약재마다 각 고유의 형태와 규격을 지니게 되었다. 그러나 관습에 의거한 기존의 切制 방식에 더하여 현대의 품질관련 기술을 반영할 필요가 있으나 이에 대한 연구는 미진하다.

한약재는 그 기원뿐만 아니라 採集과 貯藏, 炮製 등에 의하여 성분함량 등의 품질 차이가 발생하며, 이는 곧 약효의 발현에 영향을 미친다¹⁾. 그러므로 채취한 한약재의 효능을 최대한 확보하기 위하여 각 한약재에 대한 가공방법이 고대로부터

*교신저자 : 김홍준, 전북 완주군 삼례읍 후정리 우석대학교 한의과대학 본초방제학교실.
· Tel : 063-290-1131, · E-mail : kimboncho@hanmail.net.
· 접수 : 2011년 5월 1일 · 수정 : 2011년 6월 2일 · 채택 : 2011년 6월 10일

경험적으로 집약되어 ‘炮製’라는 분야로 정립되었다. 그 중 飲片은 한약재의 煎出·炮製·製劑·調劑·鑑別 등의 목적²⁾에 따라 한약재마다 각 고유의 형태와 규격을 지니게 되었다. 그러나 관습에 의거한 기존의 切制 방식에 더하여 현대의 품질관련 기술을 반영할 필요가 있으나 이에 대한 연구는 미진하다.

본 연구 대상인 桂枝(Cinnamomi Ramulus)는 녹나무과(Lauraceae)에 속한 常綠喬木인 肉桂 *Cinnamomum cassia* Bl. 또는 기타 동속 근연식물의 어린 가지를 기원으로 하는 본초로, 溫辛甘無毒하며 發汗解肌·溫經通脈·助陽化氣하는 효능으로, 風寒表實·風寒濕痺·肩背肢節酸痛·腕腹冷痛·血寒經閉·月經不調·胸痺痰飲·癥瘕·水腫·小便不利·心悸·奔豚 등에 응용한다³⁾. 주요성분은 cinnamaldehyde이고 그 밖에 cinnamic acid, o-ethoxycinnamic acid, coumarin, benzylbenzoate, β -cadinene, calamenene, taxifolin, protocathechuic acid, protocathechuic aldehyde, daucosterol 등이 보고되었다⁴⁻⁷⁾. 이 중 cinnamic acid와 cinnamaldehyde는 *Cinnamomum*屬 식물을 기원으로 하는 肉桂와 桂枝의 정량 및 정성 시험에서 가장 많이 활용되는 지표성분으로 해당 한약재의 품질평가에 응용되고 있다⁸⁻⁹⁾.

肉桂와는 다르게 桂枝는 皮層이 얇기 때문에 가공 및 유통 과정에서 皮層이 쉽게 박리되어 손실되는 경향이 있다. 또한

飲片의 형태에 따른 표면적의 차이로 인해 추출 효율의 차이도 존재할 것으로 추정된다. 현재 국내의 유통시장에서 桂枝의 飲片이 直片보다 斜片의 형태로 가공되어 유통되는 경우가 증가하고 있는 것도 이러한 이유에서 기인한 것으로 보인다. 그러나 桂枝의 飲片의 형태 및 규격에 따른 지표성분 함량의 변화에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 桂枝를 全桂枝와 皮層部, 木質部 3부분으로 나누어 cinnamic acid와 cinnamaldehyde의 부위별 정량을 통해 해당 지표성분의 함량 차이를 알아보고, 이를 바탕으로 해당 한약재의 효능을 최대화할 수 있는 飲片의 형태 또는 규격을 제안하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시료

桂枝를 4개 지역에서 유통되는 것을 구입하여 우석대학교 본초방제학교실에서 동정 후 시료로 사용하였고, 표본은 동대학에서 보관하고 있다(Table 1).

Table 1. List of samples.

Sample	Part of Cinnamomi Ramulus	Cutting Type	Manufacturer	Distribution	Country of Origin	Voucher No. (manufactured date)
Kwh	whole					
Kba	bark	OC [†]	KwangMyungDang medicinal herbs, Co.	Ulsan, Korea	Vietnam	28-04-090904 (2009. 9. 4)
Kwo	wood*					
Jwh	whole					
Jba	bark	PSC [‡]	JinYoung medicinal herbs, Co.	Yeongcheon, Korea	China	28-05-100320 (2010. 3. 20)
Jwo	wood*					
Dwh	whole					
Dbba	bark	PSC [‡]	Dong Woo Dang Pharmacy Co.	Yeongcheon, Korea	Vietnam	28-06-100406 (2010. 4. 6)
Dwo	wood*					
Hwh	whole					
Hba	bark	PLC [§]	Hansol Pharmacy Co.	Gimje, Korea	China	28-07-110402 (2010. 4. 2)
Hwo	wood*					

* wood : the bark-removed part of Cinnamomi Ramulus, [†]Oblique cut, [‡]Perpendicular-short cut, [§]Perpendicular-long cut

2) 기기 및 시약

추출 및 검액 제조에는 Analytical grinder (IKA A10, Germany), Standard test sieve #18 (Daihan science C8.20031, Korea), Sonicator (Hwashin Tech Powersonic 420, Korea) 등이 사용되었고, cinnamic acid, cinnamaldehyde (98.5% 이상, Wako, Japan) 를 지표성분으로 설정하였다(Fig. 1). 또한 기기분석에는 MeOH(HPLC grade, Fisher A452-4, USA), acetonitrile (HPLC grade, Fisher A998-4, USA), water (HPLC grade, J.T.Baker 4218-03, USA), acetic acid (Samchun Chemical A0069, Korea) 등이 사용되었다.

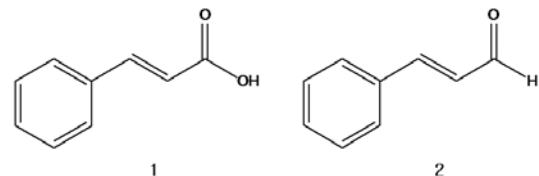


Fig. 1. Chemical structures of standard compounds. (1) cinnamic acid; (2) cinnamaldehyde

2. 방법

1) 시료 준비

全桂枝와 桂枝의 皮層部 및 木質部는 각각의 성분 함량을 비교하기 위해 analytical grinder를 이용하여 분쇄 후 200 mg씩 칭량하였다.

2) 검액 준비

1회 추출하는 약재의 무게를 200 mg으로 정하고 여기에 MeOH 10 mL를 가한 후 30분 동안 초음파 추출하였다. 추출액을 1 mL 취하여 0.45 μ m syringe filter (Advantec 13HP045AN, Japan)를 통해 여과하고 여액을 10배 희석하여 검액으로 사용하였다.

3) 분석조건

지표성분 분석을 위해 degasser, solvent delivery pump, autosampler, UV detector 등으로 구성된 SMART LC 800 (GL Science, Japan)을 사용하였고, 분석된 데이터는 EZChrom Elite 3.3.2 SP1 (Agilent, USA)을 통해 처리되었다. 분석에 사용된 컬럼은 Inertsil ODS-4 (2.1 mm \times 50 mm, 3 μ m, GL Science, Japan)이었고, 컬럼의 온도는 40 $^{\circ}$ C로 설정되었다. 이동상은 1% acetic acid가 포함된 water와 1% acetic acid가 포함된 acetonitrile의 75 : 25(v/v) 혼합물을 사용하였고, isocratic elution 방법으로 용리되었다. 유속은 500 μ L/min, 검출 파장은 280 nm로 설정되었고, 시료는 1 μ L 주입되었다.

4) 검량선 작성 및 LOD, LOQ 설정

지표성분인 cinnamic acid, cinnamaldehyde를 각각 정확히 칭량하여 MeOH에 녹인 후 표준용액으로 사용하였다. 유의성 있는 검량선을 얻기 위해 cinnamic acid의 경우 0.78–25.0 μ g/mL, cinnamaldehyde의 경우 1.03–32.81 μ g/mL의 범위에서 검량선을 작성하였고, 작성된 검량선은 상관계수(correlation coefficient, r^2)의 값을 통하여 직선성을 판단하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 각각 신호 대잡음비(signal-to-noise ratio, S/N ratio)가 각각 3, 10인 값으로 설정하였다.

결 과

1. 분석 조건 확립

두 가지 지표성분을 분석하기 위한 조건으로 acetonitrile과 water를 이동상으로 사용하였고, 여기에 지표성분의 ionization과 peak tailing을 방지하기 위해 acetic acid를 첨가하여 분석에 사용하였다. 검출 파장은 두 성분의 최대 흡수파장을 고려하여 280 nm로 설정하였다. 위 조건에서 지표성분을 분석한 chromatogram에서 cinnamic acid와 cinnamaldehyde는 두 성분 사이에 서로 간섭하는 성분 없이 분석되었다(Fig. 2).

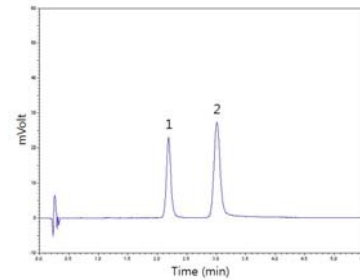


Fig. 2. Chromatograms of standard compounds mixture. (1) cinnamic acid ; (2) cinnamaldehyde

2. 지표 성분의 직선성, LOD 및 LOQ 확립

Cinnamic acid와 cinnamaldehyde 모두 각각 0.20–6.25 μ g/mL과 2.05–65.63 μ g/mL 농도 범위에서 상관 계수(r^2) 0.9999이상으로 좋은 직선성을 보였다. 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ) 값은 cinnamic acid의 경우 0.02 μ g/mL, 0.07 μ g/mL를 보였고, cinnamaldehyde의 경우 0.016 μ g/mL, 0.05 μ g/mL를 나타내었다(Table 2).

Table 2. Regression equation, correlation coefficient(r^2), LOD, LOQ of standard compounds in Cinnamomi Ramulus.

Compound	Linear range (μ g/mL)	Regression equation	r^2	LOD* (μ g/mL)	LOQ [†] (μ g/mL)
Cinnamic acid	0.20–6.25	$y=7592.87x-90.66$	0.9999	0.02	0.07
Cinnamaldehyde	2.05–65.63	$y=10356.61x-1117.67$	0.9999	0.016	0.05

*LOD : limit of detection, [†]LOQ : limit of quantification

3. 桂枝 부위에 따른 지표성분 함량 차이

Kwh, Kba, Kwo에서는 cinnamic acid가 0.29 mg/g으로 나타난 Kwo에 비해 Kwh는 1.48배, Kba는 3.03배 높은 함량을 보였으며, cinnamaldehyde는 9.75 mg/g으로 나타난 Kwo에 비해 Kwh는 1.32배, Kba는 1.84배 높게 나타났다(Fig. 3-K). Jwh, Jba, Jwo에서는 cinnamic acid가 1.05 mg/g으로 나타난 Jwo에 비해 Jwh는 1.46배, Jba는 2.07배 높은 함량을 보였으며, cinnamaldehyde는 4.75 mg/g으로 나타난 Jwo에 비해 Jwh는 1.81배, Jba는 3.85배

높게 나타났다(Fig. 3-J). Dwh, Dba, Dwo에서는 cinnamic acid가 0.16 mg/g으로 나타난 Dwo에 비해 Dwh는 4.06배, Dba는 6.56배 높은 함량을 보였으며, cinnamaldehyde는 1.92 mg/g으로 나타난 Dwo에 비해 Dwh는 7.41배, Dba는 9.74배 높게 나타났다(Fig. 3-D). Hwh, Hba, Hwo에서는 cinnamic acid가 1.21 mg/g로 나타난 Hwo에 비해 Hwh 1.33배, Hba는 1.52배 높은 함량을 보였으며, cinnamaldehyde는 4.17 mg/g으로 나타난 Hwo에 비해 Hwh는 2.78배, Hba는 4.14배 높게 나타났다(Fig. 3-H). 자세한 결과는 표과 같다(Table 3).

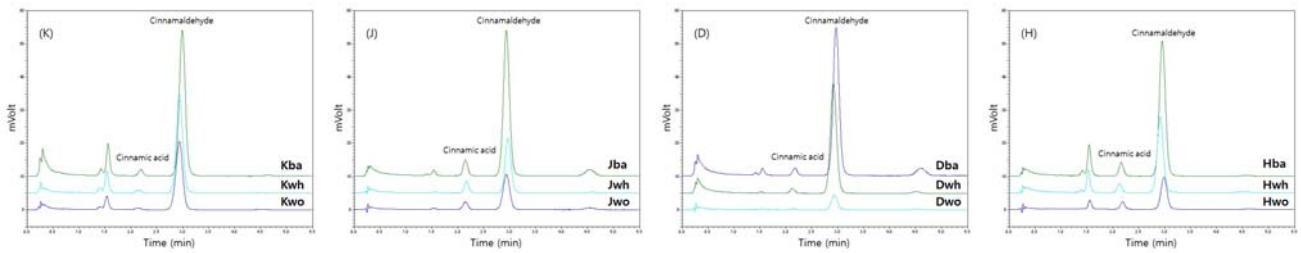


Fig. 3. Chromatograms of extracts of Cinnamomi Ramulus. (K) Oblique cut ; (J) and (D) Perpendicular–short cut ; (H) Perpendicular–long cut.

Table 3. The contents of reference compounds in different part of Cinnamomi Ramulus.

Sample	Part of Cinnamomi Ramulus	Reference compound			
		Cinnamic acid		Cinnamaldehyde	
		Mean (mg/g)	RSD [†] (%)	Mean (mg/g)	RSD (%)
Kwh	whole	0.43	3.88	12.89	0.34
Kba	bark	0.88	5.86	17.94	1.20
Kwo	wood*	0.29	3.89	9.75	1.87
Jwh	whole	1.53	9.33	8.61	0.59
Jba	bark	2.17	6.47	18.28	0.64
Jwo	wood*	1.05	1.67	4.75	1.32
Dwh	whole	0.65	1.29	14.22	1.97
Dba	bark	1.05	4.40	18.71	0.90
Dwo	wood*	0.16	2.57	1.92	1.31
Hwh	whole	1.61	1.39	11.60	0.43
Hba	bark	1.84	2.11	17.28	1.12
Hwo	wood*	1.21	6.90	4.17	2.96

*wood : the bark-removed part of Cinnamomi Ramulus, [†]RSD : relative standard deviation, RSD (%) = standard deviation / mean × 100

고찰

본 연구대상인 桂枝는 傷寒論에서 太陽傷風證에 응용하는 桂枝湯의 주요약재로, 去皮하여 사용한다고 되어있다. 그러나 김 등¹⁰⁾이 제시한 바와 같이 桂枝湯에서 ‘桂枝去皮’는 粗皮를 제거하라는 의미이므로 당시의 桂枝는 곧 肉桂를 의미한다고 추정할 수 있다. 한편, 대한약전의한약규격집¹¹⁾의 桂枝 항목에 ‘껍질부분은 매운맛이 더욱 강하다’라는 묘사가 있고, 동일 식물을 기원으로 하는 肉桂의 경우에도 樹皮 중 짙이 진한 부위가 많을수록 상품으로 취급되는 것으로 미루어 볼 때, 桂枝 또한 주로 皮層부에 약효가 있는 것으로 추정된다.

절제(切製, cutting)는 자연 상태의 약재를 실제 사용하기에 알맞게 절단하는 飮片 가공 방법을 말하며 약재를 알맞게 잘라 약효물질의 용출이 용이하고 약재의 감별도 쉽기 때문에 현재 대부분의 약재는 절단된 상태로 유통 보관되고 있다¹²⁾. 그러므로 절제 방법은 약효물질의 손실을 최소화하여 전탕 시 최대한 용출할 수 있도록 해야하기 때문에 해당 약재에 대해 최적의 절제 방법을 선택할 필요성이 있다.

한약재표준제조공정지침에서는 본 연구 대상인 桂枝의 가공법을 ‘직각 절단기를 이용하여 5-7 mm 길이로 절단’하는 것으로 제시되어 있다¹³⁾. 그러나 최근 桂枝의 가공방법에 따른 효능차이를 주장하며 기존 直片이외의 다른 형태와 규격의 飮片이 유통되고 있는데, 이는 추정에 의거한 것이므로 이에 대한 실험적 근거가 필요한 시점이다. 이에 현재 시중에서

유통되는 4개 지역의 桂枝 제품을 대상으로 全桂枝, 皮層部, 木質部 세 부분으로 나누어 지표성분인 cinnamic acid와 cinnamaldehyde를 정량분석하여 桂枝의 적절한 가공방법을 제시하고자 한다.

지표성분의 정량실험 결과, 시료 Kwh-wo, Jwh-wo, Hwh-wo에서 皮層部和 木質部の 함량의 차이가 cinnamic acid는 평균 2.2배, cinnamaldehyde는 평균 3.28배로 나타났다. 특히, 시료 Dwh-wo에서는 皮層部에서 두 성분의 함량이 木質部에서의 함량보다 cinnamic acid는 6.56배, cinnamaldehyde는 9.74배로 높게 나타나 가장 큰 차이를 보였다. 결과적으로 모든 시료에서 cinnamic acid와 cinnamaldehyde의 함량은 공히 皮層部에서 가장 높게 나타났으며 全桂枝가 그다음으로 높게 나타났고, 木質部에서 가장 낮게 측정되었다. 이러한 부위별 지표성분의 차이는 곧 皮層部の 손실을 최소화할 수 있는 飮片의 형태 및 규격이 필요함을 보여준다.

또한 육안관찰에 의하면 시료 Jwh-wo와 Dwh-wo의 경우 皮層部の 탈락정도가 斜片인 시료 Kwh-wo와 段인 시료 Hwh-wo에 비해 심했다(Fig. 4). 그러므로 斜片 또는 段的 형태가 皮層部の 손실률에 있어서 기존의 飮片 규격인 直片보다 유리한 切製 방식인 것으로 설명될 수 있다.

만약 桂枝의 주요 효능이 皮層의 성분함량에 따라 영향을 받는다고 가정한다면, 斜片이나 段과 같은 형태로 飮片 규격을 재정비하여 가공과정에서 유발될 수 있는 皮層의 손실을 최소화시켜야 한다고 사료된다.

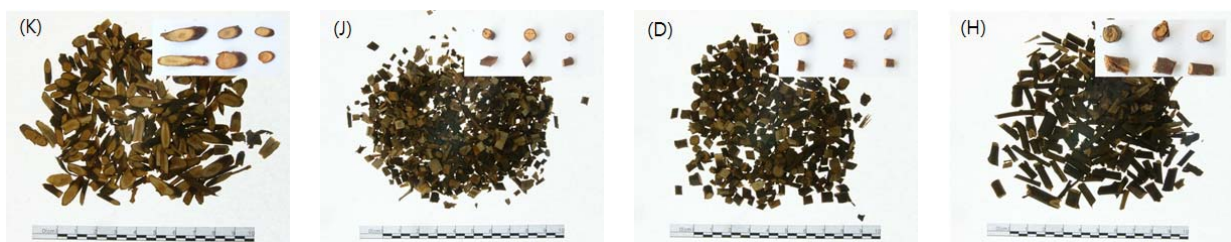


Fig. 4. Entire figures of Cinnamomi Ramulus. (K) Oblique cut ; (J) and (D) Perpendicular–short cut ; (H) Perpendicular–long cut.

결론

다른 飲片 규격의 桂枝를 구입 후 각 부위로 나누어 UPLC를 이용해 정량 분석 결과 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

1. 全桂枝, 皮層部, 木質部로 나누어 cinnamic acid와 cinnamaldehyde를 정량한 결과 皮層部の 함량이 다른 부위보다 높게 측정되었다.
2. 지표성분을 기준으로 볼 때 皮層部 손실을 최소화하는 방향으로의 飲片 규격 정비가 필요하다.
3. 이에 桂枝의 飲片은 直片보다는 斜片 또는 段과 같은 형태로의 切製를 제시하는 바이다.

향후 桂枝의 부위에 따른 효능검증과 더불어 주성분이외의 약효물질에 대한 비교 등의 보완연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2011년 우석대학교 교내학술연구비 지원을 받았음을 밝힙니다.

참고문헌

1. Kim IR. Studies about the origin, storage, cutting, processing and decocting methods of medicinal herbs. Seoul : Korea Institute of Oriental Medicine, 1998 : 1-3.
2. Herbology Editorial Committee of Korean Medicine schools. Herbology[Boncho-hak]. Seoul : Young-Lim Press, 2004 : 118.
3. Ju YS. Un-gok boncho-hak II-1[Un-gok herbology II-1]. Seoul : Seo-limje, 2004 : 26-8.
4. The Health Department and National Chinese Medicine Management Office. Zhong Hua Ben Cao[Materia medica of China] vol. 3. Shanghai : Shanghai science technology publication, 1999 : 42.
5. Lin J, Xu L, Liu J. HPLC fingerprint of Ramulus Cinnamomi. Chinese Traditional Patent Medicine, 2006 ; 28(2) : 169-71.
6. Bae KH. Isolation and Quantitative Analysis of Bioactive Compounds from Cinnamomi Ramulus and Moutan Root Bark. Korea Food and Drug Administration(KFDA). 2008 : 15-7.
7. Yang L, Zhao Q, Tan J, Shang Z, Du Z. Studies on chemical constituents of Ramulus Cinnamomi. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 2010 ; 13(3) : 183-4.
8. Korea Food and Drug Administration(KFDA). The Korean Pharmacopoeia 9th ed[Internet]. The KFDA Notification 2007-89, 2007[cited 2011 May 8] : 961. Available from : <http://kfda.go.kr/index,kfda?mid=92&pageNo=1&seq=3461&cmd=v>
9. State Pharmacopoeia Committee of the PRC. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Beijing : People's Medical Publishing House, 2010 : 259.
10. Lee EJ, Kim IR. The Botanical Names of Gyeji in Gyejitang by the Theory of Principal , Adjuvant , Auxillary and Conductant Ingredients in a Prescription. Journal of Dong-Eui Oriental Medicine, 2000 ; 4 : 33-7.
11. Korea Food and Drug Administration(KFDA). Korean Herbal Pharmacopoeia[Internet]. The KFDA Notification 2011-12, 2011[cited 2011 May 8] : 42. Available from : <http://kfda.go.kr/index,kfda?mid=92&pageNo=1&seq=3468&cmd=v>
12. Ju YS. Un-gok boncho-hak I[Un-gok herbology I]. Seoul : Seo-limje, 2002 : 271.
13. Korea Food and Drug Administration(KFDA). Standard of First Processing in Herbal Medicines vol. 2. Korea Food and Drug Administration (KFDA). 2010 : 5.