

서울시내 유통 중인 계지의 지표성분 함량분석

이정숙[#] · 이성득 · 황광호 · 김희순 · 유인실 · 한기영 · 채영주

서울시보건환경연구원

(Received February 20, 2013; Revised June 5, 2013; Accepted July 18, 2013)

Analysis of Cinnamic Acid, Cinnamaldehyde and 2-Methoxycinnamaldehyde in *Cinnamomi Ramulus* on the Market in Seoul by HPLC

Jeong-Sook Lee[#], Sung-Deuk Lee, Kwang-Ho Hwang, Hee-Soo Kim, In-Sil Yoo,
Ki-Young Han and Young-Zoo Chae

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul 130-060, Korea

Abstract — For the quality control of traditional herbal medicine, *Cinnamomi Ramulus*, simultaneous determination of cinnamic acid, cinnamaldehyde, and 2-methoxycinnamaldehyde was established by using a high performance liquid chromatographic (HPLC) method with diode array detector. To separate three constituents, Eclipse XDB C18 (5 μm, 4.6×250 mm) was used with 0.1% acetic acid and acetonitrile. Validation of the chromatography method was evaluated by linearity, recovery, and precision test. Calibration curve of standard components showed excellent linearity ($R^2 > 0.9999$). A simple and efficient method by HPLC was developed to evaluate the quality of traditional herbal medicines made from *Cinnamomi Ramulus*. Three major bioactive ingredients in 30 samples that are from China(8) and Vietnam(22) were separated and quantified.

Keywords □ *Cinnamomi Ramulus*, high performance liquid chromatography (HPLC), DAD, cinnamic acid, cinnamaldehyde, 2-methoxycinnamaldehyde

계지는 녹나무과(*Lauraceae*)에 속하는 상록 교목인 계수나무 (*Cinnamomum cassia* PRESL)의 어린 가지이며 육계는 계수나무의 줄기껍질로서 그대로 또는 주피를 다소 제거한 것이다.¹⁾ 계수나무는 주로 중국 남부 광동성, 광서성 및 북 베트남에서 생산된다.²⁾ 계지와 육계는 계수나무에서 채취하는 것으로 모두 한의학적으로 營血을 溫하고 氣化를 도와 寒凝을 散하는 작용을 한다. 단 육계는 溫裏祛寒하는 작용이 뛰어나 下焦에 작용하여 腎陽을 补하며, 계지는 發表散寒에 우수하므로 上行하여 溫經脈하는 작용을 하며,³⁾ 대표적인 辛溫解表藥으로서 계지탕, 마황탕, 대청룡탕, 갈근탕 등을 비롯한 한약처방에 주로 사용되는 약재이다. 계지의 약리학적인 연구로는 항염증작용,⁴⁾ 항산화작용,^{5,6)} 항진균작용⁷⁾과 구강세균에 대한 항균작용⁸⁾이 알려져 있다.

계지의 생리활성성분으로는 cinnamic acid, cinnamaldehyde, 2-methoxycinnamaldehyde, eugenol, coumarin, β-sitosterol, 2-hydroxycinnamaldehyde, cinnamic alcohol, coniferaldehyde, 4-

hydroxybenzoic acid, daucosterol, 등이 알려져 있다.⁹⁾ 계지의 주성분인 cinnamaldehyde는 항돌연변이효과,¹⁰⁾ 항염증작용¹¹⁾을 하는 것으로 알려졌으며 cinnamic acid는 항산화작용¹²⁾을 하는 것으로 알려져 있다.

생리활성성분의 함량에 관한 연구로는 LIN¹³⁾ 등이 중국산 계지에 대하여 cinnamic acid 와 cinnamaldehyde의 함유량을 조사하였으며 대한약전에 육계는 cinnamic acid 0.03% 이상으로 지표성분에 대한 함량규격이 설정되어 있으나 계지는 지표성분이 설정되어 있지 않아 계지의 주성분인 cinnamaldehyde, cinnamic acid 및 2-mehtoxycinnamaldehyde(Fig. 1)를 액체크로마토그래피를 이용하여 동시분석법을 확립하고 서울시내 유통 중인 계지에 대하여 그 함유량을 검토하여 계지의 지표성분의 설정과 산

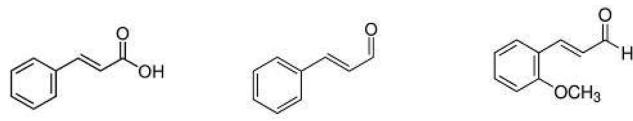


Fig. 1 – Chemical structures of three marker constituents in *Cinnamomi Ramulus*.

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-968-5098 (팩스) 02-964-8174
(E-mail) pinetree01@seoul.go.kr

지에 따른 차이를 알아보고자 하였다.

실험방법

재료

2012년 서울시내 유통 중인 계지 규격품 중국산 8건, 베트남산 22건을 한약재도매업소 및 한의원에서 구입하였으며, 정확성을 기하기 위해 중앙약사심의위원회에 소속된 관능검사위원의 판정을 시행하였고, 객관성이 부족해서 생기는 오류의 위험성을 줄이기 위해 검사위원 2인의 양자 합의로 판정하였다.

시약

초산(J.T Baker, Mexico)는 특급제품을 희석하여 사용하였고, 아세토니트릴(Fisher Scientific Ltd. Korea), 메탄올(Fisher Scientific Ltd. Korea)는 HPLC용을 사용하였으며 실험에 사용된 물은 초순수제조장치(Milipore Elix 3, USA)로 제조한 탈이온수를 사용하였다. 실험에 사용된 표준품 cinnamic acid(Wako 140-10-3, Japan), cinnamaldehyde(Wako, 14371-10-9, Japan), 2-methoxycinnamaldehyde(Wako, 1504-74-1, Japan)을 사용하였다.

기기 및 실험방법

정량분석에 사용된 고속액체크로마토그래피는 Agilent 1100series(Agilent Technologies, USA)를 사용하였고 소프트웨어는 Chemstation A.10.01을 사용하였고, 분석에 사용된 컬럼은 ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 mm×150 mm, 5 μm(Agilent Technologies, USA)였다. 시료추출에 사용된 초음파추출기는 Branson 5510(USA)를 사용하였고 환류추출기는 대한랩테크의 EB-106D(Korea)를 사용하였다.

시료의 조제 – 시료용 계지를 세밀로 분쇄한 후 약 500 mg을 정밀히 단 후 70% 메탄올, 1시간 초음파추출하여 검액으로 하였다.

HPLC 분석 – 이동상으로는 아세토니트릴 : 0.1% 초산(30 : 70)을 사용하였고, 유속은 분당 0.8 mL/min였으며, 컬럼온도는 실온, 검출파장은 UV 280 nm에서 검출하였다.

분석법 밸리데이션

대한약전의 의약품등 분석법의 밸리데이션에 대한 지침¹⁴⁾에 따라 동시분석법에 대해 측정값에 대한 직선성, 범위, 검출한계 및 정량한계, 회수율, 표준물질의 안정성 등을 통해 분석방법을 검증하였다.

직선성 확인(Linearity) – 분석 방법이 분석할 지표물질의 농도에 대한 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 것을 확인하기 위해 직선성을 검토하였다. 각각의 표준용액(cinnamic acid 270.0 mg/L, cinnamaldehyde 270.0 mg/L, 2-methoxycinnamaldehyde 290.0 mg/L)을 70% methanol로 단계적($\times 1/2$, $\times 1/4$, $\times 1/8$, $\times 1/16$) 회

석한 후 혼합하고 HPLC로 분석하였다. 분석한 결과에 따라 calibration curve를 작성하고 통계 프로그램을 이용하여 liner regression equation($Y=ax+b$, a는 직선의 기울기, b는 Y 절편, x는 시료의 농도, Y는 피크의 면적)을 계산하고 correlation coefficient(R^2) 값을 통해 직선성을 확인하였다. 또한 정량한계(LOD)를 통해 분석대상물의 검출이 가능한 최저 농도를 확인하였고 검출한계(LOQ)를 통해 분석대상물의 정량이 가능한 최저 농도를 확인하였다. LOD는 $3.3 \times SD/S$, LOQ는 $10 \times SD/S$ (SD는 표준편차, S는 직선의 기울기)로 값을 계산하였다.

정밀성 평가(Precision) – 확립한 분석법의 실험 환경의 변화에 따른 결과의 변이 정도를 측정하는 것으로 상대표준편차(RSD%)를 통해 정밀성을 판단하였다. 정밀성 평가는 inter-day test와 intra-day test를 통하여 검증되었다. Inter-day test는 표준용액을 각각 3가지 농도(cinnamic acid 10.3 mg/L, 30.9 mg/L, 51.5 mg/L, cinnamaldehyde 31.2 mg/L, 93.6 mg/L, 155.9 mg/L, 2-methoxycinnamaldehyde 10.5 mg/L, 31.5 mg/L, 52.5 mg/L)로 70% methanol로 희석해 혼합표준용액으로 제조하여 시험 날짜를 변경하여 1일, 2일, 3일째 되는날, 3회 반복실험을 하여 상대표준편차를 구하여 평가하였다. Intra-day test는 3가지 농도(inter-day test와 동일 농도)의 혼합표준용액을 하루 동안에 3회 반복실험을 하여 얻은 결과의 상대표준편차를 구하여 평가하였다.

회수율 시험(Recovery) – 정확성 평가를 위해 회수율 시험을 수행하였다. 회수율 시험은 농도가 확인된 시료에 측정하고자 하는 지표물질의 일정 농도를 첨가한 후 실험을 통해 추가된 지표성분의 양을 확인하는 방법을 사용하였다. 기지의 계지 시료 100 mg을 취한 후 각각의 표준원액 cinnamic acid(206.0 mg/L), cinnamaldehyde(623.7 mg/L), 2-methoxycinnamaldehyde(210.0 mg/L)을 각각 5 mL, 3 mL, 1 mL 첨가한 후 70% 메탄올을 기하여 20 mL로 정용한 후 30분간 초음파 추출하였다. 추출액을 3회 반복 실험하여 회수율을 측정하여 첨가된 지표성분의 양이 정확하게 회수되는지를 확인하였다. 회수율 시험은 첨가된 양과 측정된 양의 비율(회수율%)=(측정된 양/첨가된 양)×100로 구하였다. 또한 상대표준편차(RSD%)값을 측정하여 정밀성을 확인하였다.

표준물질의 안정성 – 조제한 표준물질을 냉장(4°C)과 실온에서 1일, 7일, 30일 보관 후 그 양을 측정하여 상대표준편차(RSD%)값을 측정하여 표준물질의 안정성을 확인하였다.

본 연구를 통하여 확립된 동시분석법을 적용하여 계지의 주성분인 cinnamaldehyde, cinnamic acid 및 2-methoxycinnamaldehyde를 서울시내 유통중인 계지에 대하여 그 함유량을 검토하였다.

결과 및 고찰

분석 조건의 확립

계지의 3가지 지표성분 cinnamic acid, cinnamaldehyde, 2-

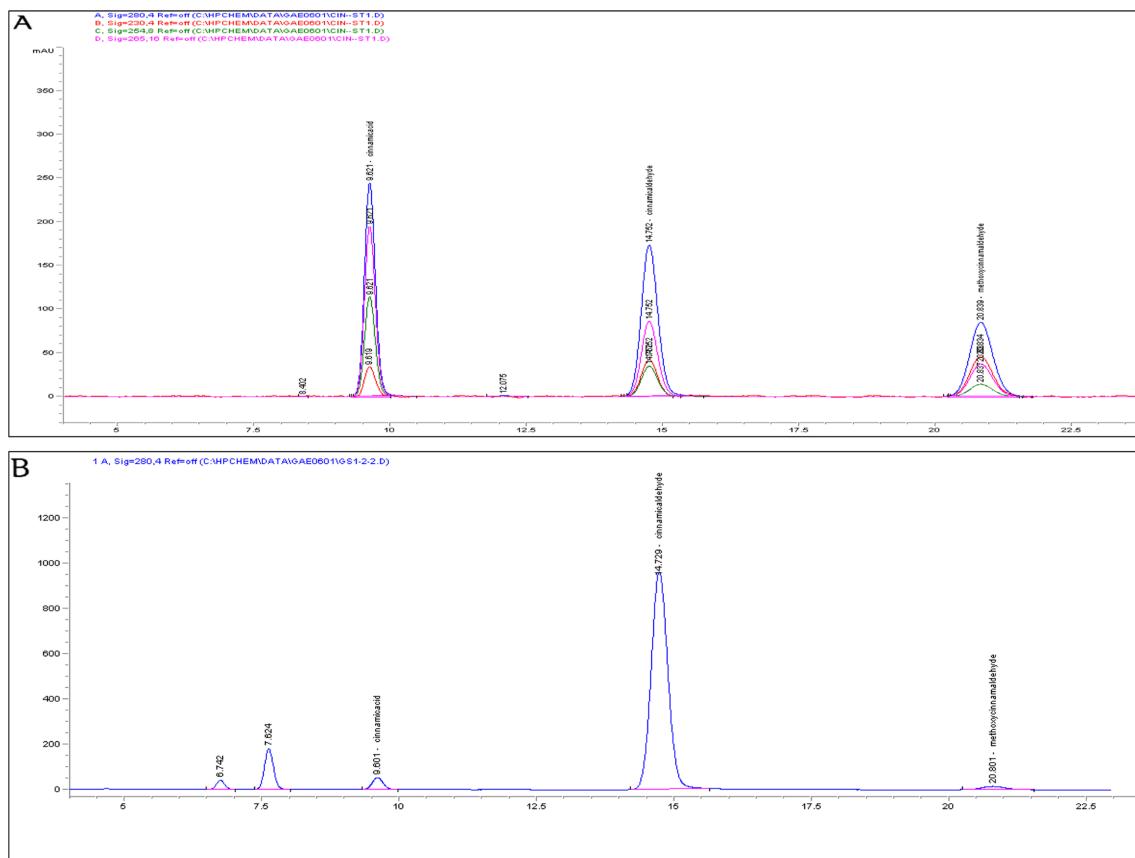


Fig. 2 – HPLC chromatogram of standard mixture (A) and *Cinnamomi Ramulus* sample (B).

Table I – Comparison of marker compounds contents according to extraction solution, time and method

추출용매와 시간	Cinnamic acid (%) n=3			Cinnamaldehyde (%) n=3			2-Methoxycinnamic acid (%) n=3		
	30 min	1 h	2 h	30 min	1 h	2 h	30 min	1 h	2 h
100% MeOH 환류추출	0.067± 0.000 ^{efg}	0.071± 0.002 ^g	0.063± 0.002 ^{cde}	1.601± 0.005 ^{cd}	1.559± 0.054 ^c	1.394± 0.071 ^b	0.074± 0.000 ^{ef}	0.075± 0.006 ^{ef}	0.057± 0.002 ^a
	0.000 ^{efg}	0.002 ^g	0.002 ^{cde}	0.005 ^{cd}	0.054 ^c	0.071 ^b	0.000 ^{ef}	0.006 ^{ef}	0.002 ^a
70% MeOH 환류추출	0.056± 0.001 ^b	0.066± 0.002 ^{def}	0.069± 0.005 ^{fg}	1.419± 0.021 ^b	1.607± 0.034 ^{cd}	1.671± 0.099 ^d	0.069± 0.001 ^{cd}	0.077± 0.002 ^{fgh}	0.081± 0.005 ^{hi}
	0.001 ^b	0.002 ^{def}	0.005 ^{fg}	0.021 ^b	0.034 ^{cd}	0.099 ^d	0.001 ^{cd}	0.002 ^{fgh}	0.005 ^{hi}
50% MeOH 환류추출	0.048± 0.004 ^a	0.048± 0.001 ^a	0.055± 0.003 ^b	1.243± 0.067 ^a	1.242± 0.011 ^a	1.376± 0.053 ^b	0.064± 0.003 ^b	0.065± 0.001 ^{bc}	0.071± 0.002 ^{de}
	0.004 ^a	0.001 ^a	0.003 ^b	0.067 ^a	0.011 ^a	0.053 ^b	0.003 ^b	0.001 ^{bc}	0.002 ^{de}
100% MeOH 초음파추출	0.059± 0.001 ^{bc}	0.062± 0.001 ^{cd}	0.064± 0.001 ^{de}	1.585± 0.015 ^c	1.580± 0.010 ^c	1.592± 0.005 ^{cd}	0.075± 0.001 ^{ef}	0.075± 0.000 ^f	0.077± 0.001 ^{fg}
	0.001 ^{bc}	0.001 ^{cd}	0.001 ^{de}	0.015 ^c	0.010 ^c	0.005 ^{cd}	0.001 ^{ef}	0.000 ^f	0.001 ^{fg}
70% MeOH 초음파추출	0.065± 0.000 ^{de}	0.065± 0.001 ^{de}	0.065± 0.000 ^{de}	1.604± 0.013 ^{cd}	1.584± 0.026 ^c	1.595± 0.009 ^{cd}	0.082± 0.001 ^{hi}	0.081± 0.001 ^{hi}	0.082± 0.000 ⁱ
	0.000 ^{de}	0.001 ^{de}	0.000 ^{de}	0.013 ^{cd}	0.026 ^c	0.009 ^{cd}	0.001 ^{hi}	0.001 ^{hi}	0.000 ⁱ
50% MeOH 초음파추출	0.062± 0.003 ^{cd}	0.064± 0.001 ^{de}	0.065± 0.000 ^{de}	1.536± 0.054 ^c	1.569± 0.016 ^c	1.577± 0.013 ^c	0.078± 0.023 ^{fghi}	0.080± 0.001 ^{ghi}	0.081± 0.001 ^{ghi}
	0.003 ^{cd}	0.001 ^{de}	0.000 ^{de}	0.054 ^c	0.016 ^c	0.013 ^c	0.023 ^{fghi}	0.001 ^{ghi}	0.001 ^{ghi}

1) Mean±S.D. and the sample alphabet in each column mean not significantly different ($p<0.05$) by anova Duncan's multiple range test.

Table II – The linearity, correlation coefficient (R^2), limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the compounds studied

Marker compounds	Linear range (mg/L)	Regression equation	R^2	LOD ¹⁾ (mg/L)	LOQ ²⁾ (mg/L)
Cinnamic acid	16.9~270.0	$y=98.286x+101.96$	0.9999	4.80	14.56
Cinnamaldehyde	15.8~253.0	$y=115.147x+22.12$	1.0000	2.73	8.27
2-Methoxycinnamaldehyde	18.1~290.0	$y=70.305x-10.74$	1.0000	2.01	6.09

1) : Limit of detection (LOD)= $3.3 \times \delta/S$.

2) : Limit of quantitation (LOQ)= $10 \times \delta/S$.

(δ : standard deviation, S : the individual slope in calibration curves).

Table III – Analytical results of precision test through Intra-day and Inter-day

Marker compounds	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Intra-day (n=3)		Inter-day (n=3)	
		Mean \pm S.D. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)	Mean \pm S.D. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)
Cinnamic acid	51.5	53.69 \pm 0.09	0.18	53.57 \pm 0.13	0.25
	30.9	31.89 \pm 0.05	0.14	31.76 \pm 0.17	0.53
	10.3	9.53 \pm 1.24	0.16	9.53 \pm 0.03	0.27
Cinnamaldehyde	155.9	154.32 \pm 0.38	0.25	153.42 \pm 0.47	0.31
	93.6	93.41 \pm 0.15	0.16	92.96 \pm 0.54	0.58
	31.2	30.97 \pm 0.04	0.12	30.74 \pm 0.24	0.77
2-Methoxycinnamaldehyde	52.5	50.83 \pm 0.22	0.44	50.53 \pm 0.65	1.28
	31.5	30.84 \pm 0.09	0.29	30.69 \pm 0.28	0.91
	10.5	10.66 \pm 0.02	0.19	10.47 \pm 0.20	1.91

methoxycinnamaldehyde의 동시분석법을 위해 분석조건을 확립하였다. 이동상은 0.1% 초산과 아세토니트릴을 7:3의 비율로 사용하였고 유속 0.8 mL/min으로 하였다. DAD detector의 파장 조건은 230 nm, 254 nm, 265 nm, 280 nm을 적용하였고, 이 중 280 nm에서 3성분 모두 가장 양호한 결과를 얻어 280 nm로 설정하여 각 지표성분의 해당되는 파장의 peak area를 측정하였다 (Fig. 2).

추출조건의 확립

계지의 지표성분 추출시간과 추출방법을 비교한 결과 70% 메탄올로 30분 초음파추출이 가장 효율적이었다(Table I).

분석방법의 직선성과 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ)

측정된 peak area 결과에 따라 작성된 calibration curve를 통해 3가지 지표성분의 correlation coefficient(R^2)값을 확인한 결과, 종

은 직선성($R^2 > 0.9999$)을 나타내었다. 이 직선상 안에서의 검출한계(limit of detection)와 정량한계(limit of quantification)를 측정한 결과, 3가지의 지표성분은 2.01~4.80 mg/L 범위의 검출한계

Table IV – Analytical results of accuracy test

Marker compounds	Spiked amount (mg/L)	Measured amount (mg/L)	RSD (%)	Recovery (%)
Cinnamic acid	51.5	55.39 \pm 0.31	0.56	107.6
	30.9	33.28 \pm 0.11	0.32	107.7
	10.3	11.04 \pm 0.11	1.02	107.2
Cinnamaldehyde	155.9	15.10 \pm 0.13	0.83	96.9
	93.6	90.59 \pm 0.21	0.23	96.8
	31.2	29.44 \pm 0.98	3.31	94.4
2-Methoxycinnamaldehyde	52.5	48.28 \pm 1.47	3.06	92.0
	31.5	29.95 \pm 0.08	0.28	95.1
	10.5	10.02 \pm 0.11	1.05	95.4

$$\text{Recovery (\%)} = (\text{Measured amount} / \text{Spiked amount}) \times 100.$$

Table V – Analytical results of stability test of marker compounds

Marker compounds	Concentration (mg/mL)	Temp.	Measured concentration (mg/mL)			RSD (%)
			1 day	7 day	30 day	
Cinnamic acid	51.5	4°C	53.62 \pm 0.03	53.28 \pm 0.09	53.70 \pm 0.03	0.42
		RT	53.80 \pm 0.44	53.82 \pm 0.07	53.91 \pm 0.10	0.10
		4°C	31.76 \pm 0.01	31.57 \pm 0.01	31.77 \pm 0.06	0.35
	30.9	RT	32.07 \pm 0.05	31.64 \pm 0.04	31.88 \pm 0.11	0.68
		4°C	9.54 \pm 0.01	9.45 \pm 0.01	9.47 \pm 0.02	0.50
		RT	9.62 \pm 0.03	9.56 \pm 0.04	9.54 \pm 0.01	0.42
Cinnamaldehyde	155.9	4°C	153.22 \pm 0.17	152.48 \pm 0.56	151.47 \pm 1.37	0.58
		RT	155.88 \pm 1.64	153.23 \pm 0.31	149.53 \pm 0.10	2.09
		4°C	92.77 \pm 0.07	92.43 \pm 0.02	92.03 \pm 0.37	0.40
	93.6	RT	93.94 \pm 0.21	92.91 \pm 0.02	91.37 \pm 0.19	1.39
		4°C	30.66 \pm 0.02	30.54 \pm 0.04	30.35 \pm 0.06	0.51
		RT	31.17 \pm 0.07	27.93 \pm 0.29	28.22 \pm 0.35	6.16
2-Methoxycinnamaldehyde	52.5	4°C	50.62 \pm 0.15	50.31 \pm 0.05	46.61 \pm 3.94	4.54
		RT	48.68 \pm 0.77	42.78 \pm 0.16	32.20 \pm 0.21	20.26
		4°C	30.70 \pm 0.04	30.68 \pm 0.00	30.09 \pm 0.08	1.14
	31.5	RT	30.31 \pm 0.09	24.90 \pm 0.10	23.92 \pm 2.26	13.06
		4°C	10.40 \pm 0.04	10.40 \pm 0.04	9.99 \pm 0.10	2.29
		RT	10.59 \pm 0.04	7.14 \pm 0.01	7.55 \pm 0.02	22.35

RT: Room temperature.

를, 6.09~14.56 mg/l 범위의 정량한계를 나타내었다(Table II).

정밀성 평가

직선성을 나타내는 구간 안의 일정한 3가지 농도에서 하루 동안 측정한 일내시험과 3일 동안 측정한 일간시험 결과, 일내시험은 0.12~0.44% 를, 일간시험은 0.25~1.91%의 상대표준편차(RSD, %)를 나타낸 것으로 나타나 2.0% 이하의 높은 정밀성을 확인할 수 있었다(Table III).

회수율 시험

계지 시료에 기지 농도로 단계적으로 희석한 혼합표준물질을 첨가한 후 회수율을 시험한 결과, 3가지 지표물질의 회수율은 각각 92.0%에서 107.7%의 범위를 나타내어 매우 정확함을 나타내

었으며, 상대표준편차(RSD, %)는 3.31% 이하의 값을 나타내었다(Table IV).

표준물질의 안정성

표준물질을 실온과 냉장보관(4°C)에서 1일, 7일, 30일 보관 후 그 양을 측정한 결과 냉장보관의 경우 3성분 모두 상대표준편차 6.0% 이하로 안정하였으나, 실온 보관의 경우 2-methoxycinnamaldehyde는 상대표준편차가 10.0% 이상으로 7일 이상 보관 시는 안정하지 않음을 알 수 있었다(Table V).

획립된 동시분석법을 통한 계지 시료 분석

획립한 동시분석법을 이용하여 서울 시내에서 유통 중인 계지를 분석하여 분석법의 적용가능성을 검토하였다. 3가지 지표성

Table VI – Contents of three marker compounds in commercial *Cinnmomi Ramulus*

Sample No.	Origin	Cinnamic acid (%)	Cinnamaldehyde (%)	2-Methoxycinnamaldehyde (%)	Total (%)
1	China	0.14	1.08	0.20	1.42
2	China	0.16	1.26	0.29	1.71
3	China	0.10	1.32	0.34	1.75
4	China	0.12	1.01	0.31	1.45
5	China	0.17	1.45	0.06	1.68
6	China	0.06	1.08	0.08	1.22
7	China	0.08	1.69	0.28	2.05
8	China	0.06	1.75	0.07	1.88
Mean±SD		0.11±0.04	1.33±0.28	0.20±0.12	1.64±0.27
Range		0.06~0.17	1.01~1.75	0.06~0.34	1.22~2.05
9	Vietnam	0.09	1.38	0.25	1.72
10	Vietnam	0.12	1.63	0.06	1.81
11	Vietnam	0.10	1.54	0.07	1.71
12	Vietnam	0.07	1.22	0.22	1.51
13	Vietnam	0.09	1.60	0.07	1.77
14	Vietnam	0.14	1.24	0.07	1.45
15	Vietnam	0.08	1.00	0.05	1.13
16	Vietnam	0.11	1.48	0.06	1.66
17	Vietnam	0.04	0.99	0.04	1.07
18	Vietnam	0.11	1.41	0.06	1.58
19	Vietnam	0.06	1.78	0.06	1.89
20	Vietnam	0.07	1.48	0.05	1.60
21	Vietnam	0.08	1.15	0.21	1.44
22	Vietnam	0.10	2.08	0.07	2.25
23	Vietnam	0.07	1.92	0.08	2.07
24	Vietnam	0.06	1.62	0.06	1.74
25	Vietnam	0.12	1.91	0.08	2.11
26	Vietnam	0.12	1.33	0.29	1.74
27	Vietnam	0.05	1.50	0.05	1.60
28	Vietnam	0.06	1.38	0.07	1.51
29	Vietnam	0.06	1.66	0.05	1.77
30	Vietnam	0.07	1.28	0.24	1.60
Mean±SD		0.09±0.03	1.48±0.29	0.10±0.08	1.67±0.28
Range		0.04~0.14	0.99~2.08	0.04~0.29	1.07~2.25
Total	Mean±SD	0.09±0.03	1.44±0.29	0.13±0.10	1.66±0.27
	Range	0.04~0.17	0.99~2.08	0.04~0.34	1.07~2.25

n=3.

분들의 피크가 각각 다른 성분들의 피크에 간섭을 받지 않고 분석이 가능하였다(Fig. 2). 중국산 계지 8건, 베트남산 22건의 분석결과는 Table VI에 정리하였다. 서울시내 유통 중인 계지를 분석한 결과, cinnamic acid의 평균 함량은 $0.09 \pm 0.03\%$, cinnamaldehyde $1.44 \pm 0.29\%$, 2-methoxycinnamaldehyde $0.13 \pm 0.10\%$ 로 cinnamaldehyde가 가장 많이 함유되어 있었으며, 산지별로 3성분의 함유량을 보면 cinnamic acid는 중국산 $0.11 \pm 0.04\%$, 베트남산 $0.09 \pm 0.03\%$ 로 중국산과 베트남산 사이의 유의차가 있었다($F=4.839$, $P<0.036$). Cinnamaldehyde는 중국산 $1.33 \pm 0.28\%$, 베트남산 $1.48 \pm 0.29\%$ 로 산지에 따른 유의성은 보이지 않았으나, 2-methoxycinnamaldehyde는 중국산 $0.20 \pm 0.12\%$, 베트남산 $0.10 \pm 0.08\%$ 로 산지에 따른 유의차가 있었다($F=28$, $p<0.012$). 3성분의 합은 중국산 $1.64 \pm 0.27\%$, 베트남산 $1.67 \pm 0.28\%$ 로 차이를 보이지 않았으며, cinnamic acid와 2-methoxycinnamaldehyde는 중국산에 더 많이 함유되어 있으나 cinnamaldehyde의 함유량은 별다른 차이가 없었다. 대한약전에 육계의 지표성분으로는 cinnamic acid가 0.03% 이상으로 설정되어 있으나 계지의 경우 지표성분이 설정되어 있지 않아 본 연구를 통해 계지의 지표성분으로는 가장 많은 양이 검출되고 계지의 생리활성물질인 cinnamaldehyde로 설정함이 타당하며 그 양으로는 0.8% 이상이 타당할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서 계지의 3가지 지표성분인 cinnamic acid, cinnamaldehyde, 2-methoxycinnamaldehyde에 대해 HPLC-DAD를 통한 동시분석법을 확립하였다. 이 동시분석법에 대해 직선성, 정밀성, 회수율 시험을 통한 정확성 평가의 결과로 유효성을 확인하였고, 서울시내 유통중인 계지에 대해 적용한 결과, 다른 성분과의 간섭 없이 효과적인 분석이 이루어졌다. 따라서 확립된 동시분석법은 계지의 정량분석에 있어서 시간적, 경제적 손실을 줄이고 각각의 지표성분을 효율적으로 분석할 수 있는 방법이며 계지의 지표성분으로 cinnamaldehyde를 설정하고 그 함량은 0.8% 이상을 제안하는 바이다.

참고문헌

- 대한약전 9개정, 식품의약품안전청, 서울 (2007).

- 생약학연구회, 현대생약학, 학창사, 서울 p. 155 (2004).
- 서부일, 이제현, 최호영, 권동렬, 부영민 : 한약본초학, 영림사, 서울 p. 449 (2006).
- 대한약학대학교재연구회, 한약방제학, 소답, 서울 (1994).
- 박희준, 이지숙, 이재동, 김남재, 표지희, 강전모, 최일환, 김수영, 김범상, 이제현, 임사비나 : 계지의 항염 효과에 관한 연구. 대한한의학회지 **26**, 140 (2005).
- 박시홍, 강병수 : 계피나무의 부위별 항산화 작용에 관한 연구 (II). 대한본초학회지 **16**, 159 (2001).
- Liang, M. T., Yang, C. H., Li, S. T., Yang, C. S., Chang, H. W., Liu, C. S., Cham, T. M. and Chuang, L. Y. : Antibacterial and antioxidant properties of *Ramulus Cinnamomi* using supercritical CO₂ extraction. *Eur. Food Res. Technol.* **227**, 1387 (2008).
- 최인호, 김연희, 이동녕, 김형준 : *Candida albicans*에 대한 계지, 백두옹, 백선파, 백작약, 빈랑, 인진의 항진균효과. 동의생리 병리학회지 **19**, 690 (2005).
- 김정심 : 구강세균 *S. mutans*와 *S. sanguis*에 대한 계지의 생육 저해 효과, 충남대학교 석사학위논문 (2010).
- 배기환 : 한약재의 생리활성성분 분리 및 분석연구(계지, 목단피), 식품의약품안전청 연구결과보고서, 서울 (2008).
- Bernhard, R. and Elmar, G. : The antimutagenic effect of cinnamaldehyde is due to a transient growth inhibition cinnamaldehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis* **201**, 97 (1988).
- Chao, L. K., Hua, K. F., Hsu, H. Y., Cheng, S. S., Lin, I. F., Chen, C. J., Chen, S. T. and Chang, S. T. : Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling. *Food and Chemical Toxicology* **46**, 220 (2008).
- Dominique, P., Pascal, C., Fernand, L., Catherine, R., Valerie, S. M., Jean, C. and Jacques, C. : Antioxidant activity of some ascorbic and cinnamic acids derivatives. *Il Farmaco* **53**, 85 (1998).
- LIN Jia, XU Li-zhen, LIU Jiang-yun and ZOU Zhong-mei : Study on contents of cinnamaldehyde and cinnamic acid and distribution of *Ramulus Cinnamomi*. *Chinese Pharmaceutical Journal* **23** (2005).
- 대한약전 9개정 일반정보.