

포제(炮製)에 따른 감초 중 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid의 함량분석

서창섭¹ · 김정훈¹ · 신현규¹ · 황석연² · 김병수³ *

Quantitative Analysis of the Marker Components in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by Processing Method

Seo Chang-Seob¹ · Kim Jung-Hoon¹ · Shin Hyeun-Kyoo¹ · Hwang Seock-Yeon² · Kim Byoung-Soo³ *

¹Herbal Medicine Formulation Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine

²Department of Biomedical Laboratory Science, College of Natural Science, Daejeon University

³Department of Physiology, College of Korean Medicine, Daejeon University

Glycyrrhizae Radix et Rhizoma has been extensively used by human beings as a medicinal herb as well as natural sweetener. In this study, we performed quantification analysis of three major constituents including liquiritin, glycyrrhizin, and glycyrrhetic acid in the 70% ethanol extracts of non-processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma using a high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array detector. The analytical column for separation of the 3 constituents used a Gemini C18 column kept at 40°C by the gradient elution of two mobile phase. The amounts of liquiritin, glycyrrhizin, and glycyrrhetic acid in non-processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma were 2.57%, 3.52%, and not detected. After processing by roasting, the best roasting temperature and time of liquiritin, glycyrrhizin, and glycyrrhetic acid were 160°C-15 min (2.46%), 160°C-15 min (3.67%), and 240°C-15 min (0.76%), respectively.

Key words : Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Processing Method, Liquiritin, Liquiritigenin, Glycyrrhizin, Glycyrrhetic acid

I. 서 론

감초 (Glycyrrhizae Radix et Rhizoma)는 콩과 (Leguminosae) 식물로서 감초 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.), 광과감초 (*Glycyrrhiza*

glabra L.) 또는 창과감초 (*Glycyrrhiza inflata* Batal.)의 뿌리 및 뿌리줄기로서 그대로 또는 주피를 제거한 것을 약용으로 사용하며, 예로부터 청열해독 (淸熱解毒), 윤폐지해 (潤肺止咳), 보비익기 (補脾益氣) 및 조화제약 (調和諸藥) 등의 효능이 있으며, 대표적인 처방은 갈근탕, 소청룡탕, 작약감초탕, 소시호탕 및 자감초탕 등이다.^{1,2)} 감초의 주요 성분으로는 triterpen glycoside 계열

* 교신저자 : 김병수, 대전대학교 한의과대학 생리학교실.
E-mail : kbsoo@dju.kr Tel : 042-280-2616
투고일 : 2014년07월01일 수정일 : 2014년07월28일
게재일 : 2014년07월31일

의 glycyrrhizin, triterpene 계열의 glycyrrhetic acid, liquiritic acid, glabrolide, isoglabrolide, deoxyglabrolide 및 glabric acid, flavanone 계열의 liquiritin과 liquiritigenin, isoflavone 계열의 formononetin과 licoisoflavonone, isoflavan 계열의 licoricidin, hispaglabridin 및 glabridin 및 chalcone 계열의 isoliquiritin, isoliquiritigenin, licochalcone A, licochalcone B 및 isoprenylchalcone 등 다양한 성분들이 분리 및 보고되었다.^{1,2)} 감초는 항산화,^{3,4)} 항염증,⁵⁻⁷⁾ 항균작용,⁸⁾ 항암⁹⁾ 및 항바이러스,^{10,11)} 효과 등 다양한 생리활성 효능이 보고되었다. 한편 생약은 한의학 이론에 따라 포제 (炮製)라는 한방 제제기술을 사용하여 반하와 같이 약성 (藥性)을 변화시켜 독성과 부작용을 약화 또는 제거, 감초와 같이 해독 또는 脾胃를 補하는 작용을 높이기 위한 목적으로 사용되거나 특정 약효의 증강 및 미생물이나 곤충 등에 의한 부패와 변질을 방지하여 장기보존을 위한 목적 등으로 이용되어 왔다.¹²⁻¹⁴⁾ 이러한 炮製에는 초제법 (炒製法), 탕제법 (燙製法), 자제법 (炙製法), 단제법 (燉製法), 외제법 (煨製法), 증제법 (蒸製法), 자제법 (煮製法), 약즙제법 (藥汁製法), 발효법 (醱酵法) 및 발아법 (發芽法) 등의 다양한 방법들이 사용되고 있다.¹⁵⁾ 따라서 감초의 炮製 기준에 관한 연구로는 이 등¹³⁾이 감초의 성분인 liquiritigenin의 함량 증대를 위한 수치, 우 등¹⁶⁾과 황 등¹⁷⁾의 열처리한 감초의 항산화 및 신경보호 효능에 대하여 연구 보고하였다. 본 연구자들은 최적의 炮製에 대한 기초 자료를 제공하고자 감초의 주요 성분인 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid를 대상으로 시간과 온도에 따라 청초법으로 炮製한 후 이들 성분의 수치 전·후에 대한 함량 변화와 건조감량, 회분 및 산불용성회분 등의 이화학적 데이터를 비교하였다.

II. 연구 방법

1. 재료

1) 실험재료

본 실험에 사용된 감초는 광명당제약 (Ulsan, Korea)에서 규격품을 구입하여 전문가로부터 감정 후 사용하였다. 감초 표본 (2012-RISGR)은 한국 한의학연구원 한약방제연구그룹에 보관하였다.

2) 시약 및 기기

표준물질인 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid는 Wako (Osaka, Japan)에서 구입하였다. HPLC 분석에 사용한 acetonitrile과 water는 HPLC grade용으로 J.T. Baker Inc. (Phillipsburg, NJ, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Acetic acid는 특급시약으로 Junsei (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다. 주요성분의 함량분석은 communications bus module (CBM-20A), pump (LC-20AT), photodiode array detector (SPD-M20A), auto sampler (SIL-20AC), column oven (CTO-20A) 및 degasser (DGU-20A3)로 구성된 Shimadzu Prominence LC-20A series (Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며, 데이터 수집과 처리는 LC solution software (Version 1.24, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였다. 회화로, 건조기, 초음파추출기 및 수치는 Thermolyne 48000 furnace (Barnstead, Dubuque, IA, USA), OF-22G (JeioTech, Daejeon, Korea), Branson 8510E-DTH (Branson Ultrasonic Co., Danbury, CT, USA) 및 CBR-101A (GeneCafe, Ansan, Korea)를 사용하였다.

2. 한약재 炮製

구입된 감초 규격품에 대하여 온도 (160, 180, 200, 220 및 240℃)와 시간 (5, 10 및 15분)별로 100 g씩 각각 포제 하였다. 포제 전 해당 온도에서 예비가열을 한 후 기준에 따른 온도에 도달했을 때 감초를 넣고 조건대로 조작을 하여 포제 하였다. 감초의 온도 및 시간 별 포제의 조건은 다음과 같다. 감초 (Glycyrrhizae Radix et Rhizoma), 160℃-5분, 160℃-10분, 160℃-15분, 180℃-5분,

180°C-10분, 180°C-15분, 200°C-5분, 200°C-10분, 200°C-15분, 220°C-5분, 220°C-10분, 220°C-15분, 240°C-5분, 240°C-10분 및 240°C-15분. 포제가 완료되면 실온에서 냉각시킨 후 polyethylene:polypropylene (1:1) bag으로 포장하여 냉장 보관하면서 분석에 사용하였다.

3. 관능검사

清炒法을 이용하여炮製된 감초에 대하여 적절한 온도와 시간을 설정하기 위하여 포제된 생약에 대하여 본초학 교재¹⁸⁾와 대한약전의한약(생약)규격집¹⁹⁾을 바탕으로 대전대학교 한의과대학 서영배 교수와 동국대학교 한의과대학 이제현 교수 2인의 본초학 전문가에 의해 관능검사를 실시하였다.

4. 확인시험

대한약전의 감초 확인 시험법²⁰⁾에 따라 이 약의 가루 2 g을 달아 메탄올 10 mL를 넣고 5분간 초음파추출한 다음 여과하여 검액으로 하였다. 따로 글리시리진산 표준품 5 mg 및 리퀴리틴 표준품 5 mg을 달아 각각 메탄올 1 L에 녹여 표준액 (1) 및 표준액 (2)로 하였다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험하였다. 검액 및 표준액 각각 2 µL씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적하였다. 다음에 에틸아세테이트·물·포름산·아세트산무수물혼합액 (15 : 2 : 1 : 1)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말렸다. 여기에 자외선 (주파장 254 nm)을 쬐일 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 2개의 반점은 표준액 (1) 및 표준액 (2)에서 얻은 반점과 생상 및 Rf 값을 비교하였다.

5. 건조감량 측정

대한약전의 생약시험법²¹⁾에 따라 칭량병을 미리 105°C에서 1시간 건조한 후 그 무게를 정밀하게 달았다. 그 후 무게를 단 칭량병에 시료 약 2 g을 넣어 그 층의 높이가 5 mm 이하가 되도록 편 다음 무게를 정밀하게 측정하여 105°C에서 5

시간 건조하여 데시케이터 (slica gel)에서 식힌 후 칭량병을 꺼내어 그 무게를 정밀하게 달아 건조감량 (%)을 계산하였다.

6. 회분

대한약전의 생약시험법²¹⁾에 따라 도가니를 미리 550°C에서 1시간 강열하여 데시케이터에서 방냉 한 후 그 무게를 달았다. 무게를 단 도가니에 시료 약 2 g을 넣어 무게를 정밀하게 측정하여 550°C에서 5시간 동안 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하였다. 방냉 한 후 질량을 정밀하게 달고 다시 항량이 될 때까지 회화하고 방냉 한 다음 그 질량을 정밀하게 달아 회분함량 (%)을 계산하였다.

7. 산불용성회분 측정

대한약전의 생약시험법²¹⁾에 따라 회분에 묶은 염산 25 mL을 가하여 5분간 약한 열에 끓여 불용물을 정량용 여과지로 여과한 후 잔류물을 열탕으로 잘 씻어 여과지와 함께 건조하였다. 회분과 같은 방법으로 550°C에서 5시간 동안 강열하여 데시케이터에서 방냉 한 후 그 무게를 정밀하게 달아 산불용성회분량(%)으로 하였다.

8. 벤조피렌시험

감초와 초감초 (220°C-10분, 220°C-15분, 240°C-10분 및 240°C-15분)에 대하여 식품의약품안전청 고시²²⁾에 따라 시료를 약 5.0 g을 정밀하게 달아 물 100 mL를 넣어 90분간 초음파추출하였다. 여기에 헥산 약 100 mL 및 내부표준액 1 mL을 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 섞은 다음 30분간 초음파추출하였다. 헥산층을 분액깔대기에 옮기고 다시 물층에 헥산 약 50 mL씩을 넣고 2회 반복하여 진탕추출한 후 헥산층을 취하여 분액깔대기에 합하였다. 합한 헥산층에 물 약 50 mL를 넣어 세척하고, 이 헥산층을 무수황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과한 다음 45°C의 수욕상에서 감압하여 헥산 약 2 mL가 될 때까지 농축하였다. 플로리실카트리지는 미리 디클로로메탄 10 mL 및 헥

Table 1. HPLC Condition for Benzo(a)pyrene Analysis

| Item | Condition |
|-----------------------------|---|
| Detector (nm) | Fluorescence detector (Excitation wavelength : 294 nm, Fluorescence wavelength : 404 nm) |
| Column | Supelcosil LC-PAH (5 μ m, 4.6 x 250 mm) |
| Column oven ($^{\circ}$ C) | 37 |
| Flow rate (mL/min) | 1.0 |
| Injection volume (μ L) | 10.0 |
| Mobile phase | Acetonitrile : Water (8 : 2) |

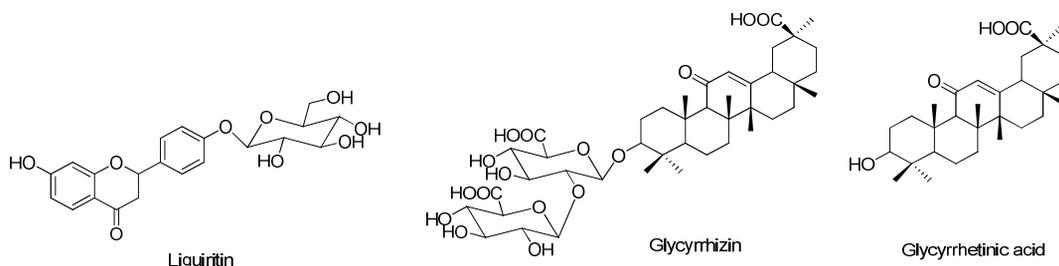


Fig. 1. Chemical structures of main compounds in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma.

산 20 mL를 순서대로 초당 2~3 방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 후 사용하였다. 활성화된 카트리지에 위의 추출용액을 넣어 hexan-dichloro 메탄 혼합액 (3 : 1) 20 mL를 초당 2~3방울의 속도로 용출시켰다. 이 용출된 액을 35 $^{\circ}$ C 이하의 수욕상에서 질소가스 하에 날려 보낸 후 잔류물을 아세토니트릴 1 mL에 녹인 다음 공경 0.45 μ m 이하의 멤브레인필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 벤조피렌 표준품 및 3-메틸콜란트렌 표준품 적당량을 정밀하게 달아 각각 아세토니트릴에 녹여 mL당 1 μ g을 함유하는 표준원액 및 내부표준원액을 만들었다. 이 표준원액과 내부표준원액 적당량을 정확하게 취하여 아세토니트릴로 mL 당 3, 5, 10, 20 및 40 ng의 벤조피렌과 각각 50 ng의 내부표준물질이 함유되도록 희석하여 표준액으로 하였다. 검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 Table 1의 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하였으며, 각 표준액에서 얻은 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 [A_S/A_{IS}]를 Y축으로 하고 벤조피렌의

농도를 X축으로 하여 만든 검량곡선을 작성하고, 검액의 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 [A_{SAM}/A_{SAMIS}]를 Y축에 대입하여 벤조피렌의 농도를 구하였다.

A_S :검량곡선표준용액의 표준물질 피크면적

A_{IS} :검량곡선표준용액의 내부표준물질 피크면적

A_{SAM} :시험용액의 벤조피렌 피크면적

A_{SAMIS} :시험용액의 내부표준물질 피크면적

내부표준액으로는 3-메틸콜란트렌 표준품을 정밀하게 달아 아세토니트릴에 녹여 1 mL 중 50 ng을 함유하는 용액으로 하였다.

9. 정량

1) HPLC 분석조건

감초의 주요성분인 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid (Fig. 1)의 함량 분석을 위해 Table 2의 조건에 따라 LC-20A series HPLC (Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 측정하였다.

Table 2. HPLC Condition for Quantitative Analysis

| Item | Condition |
|-----------------------|--|
| Detector (nm) | 254, 275 |
| Column | Gminin C ₁₈ (5 μm, 4.6x250 mm) |
| Column oven (°C) | 40 |
| Flow rate (mL/min) | 1.0 |
| Injection volume (μL) | 10.0 |
| Mobile phase | A : 1.0% acetic acid in water |
| | B : 1.0% acetic acid in acetonitrile |
| | 0-20 min, 15-40% B, 20-40 min, 40-55% B, 40-45 min, 55-100% B, 45-50 min, 100% B, 50-55 min, 100-15% B |

2) 표준액 및 검액 조제

Liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid 표준품에 대한 표준용액은 무게를 정확하게 측정 후 메탄올로 녹여 모두 1.0 mg/mL의 농도로 조제한 후 4℃에 보관하면서 사용 전에 희석하여 사용하였다.

검액은 감초 및 초감초 분말 약 200 mg을 정밀하게 달아 70% 에탄올을 넣어 20 mL로 한 후 60분간 초음파추출 한 후 0.2 μm syringe filter (SmartPor, Woongki Science, Seoul, Korea)로 여과하여 검액으로 하였다.



Fig. 2. Macroscopic picture of non-processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma.

III. 결 과

1. 감초 포제

시중 유통품인 감초를 구입하여 시간 (5, 10 및 15분)과 온도 (160, 180, 200, 220 및 240℃)에 따라 포제를 실시하였다. 최초 포제 시간은 5, 10, 15 및 20분으로 설정하였으나 최고 온도인 240℃ 20분에서 포제한 시료가 초탄이 되어 본 포제에서는 동일하게 각 온도별 20분을 제외하였다. 최종적으로 유통 감초와 포제 된 감초를 Fig. 2와 3에 나타내었다.

2. 관능검사

감초를 清炒法에 따라 炮製한 것으로, 표면의 밝은 황색이 어두운 색상으로 변하고, 단면의 색상도 유사하게 변한 상태를 기준으로 하였다. 관능검사 결과 180℃-10분 또는 200℃-5분 동안 가열한 것을 감초의 清炒에 적절한 약재로 판단하였다.

3. 확인시험

대한약전 기준에 따라 감초 및 초감초의 확인 시험 결과 liquiritin과 glycyrrhizin의 R_f 값이 1.66과 3.57로 각각 나타났으며, 감초 및 초감초에서도 같은 R_f 값에서 같은 색의 반점을 나타내었다. 그러나 포제 시간과 온도가 진행될수록 두 성분에 대한 반점은 작아지고 색은 옅어짐으로써 미루어 보아 고온과 장시간 포제시 두 성분이 열에 의해 분해됨을 알 수 있다 (Fig. 4).

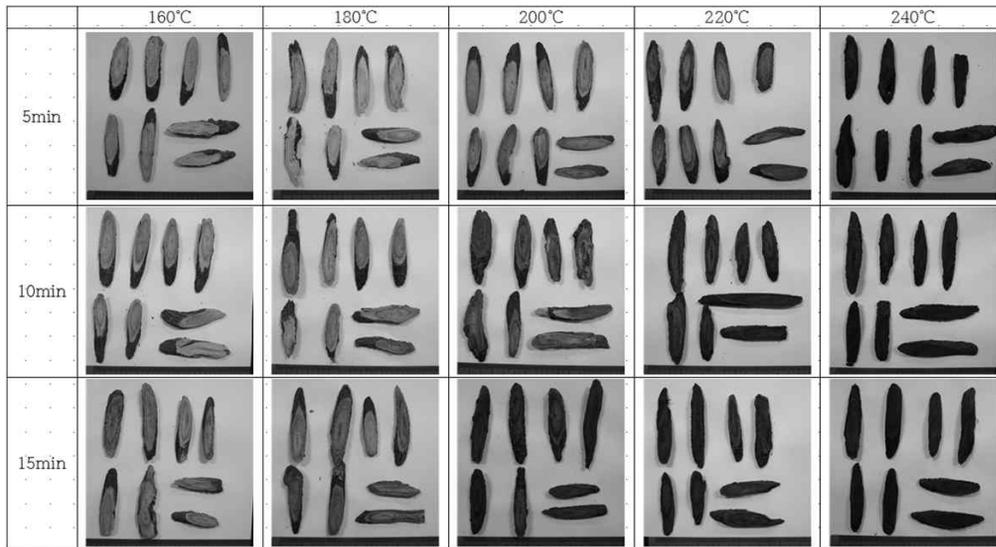


Fig. 3. Macroscopic pictures of the processed *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* produced by 'plain stir-baking' with various times and temperatures (160°C-5min, 160°C-10 min, 160°C-15 min, 180°C-5 min, 180°C-10 min, 180°C-15 min, 200°C-5 min, 200°C-10 min, 200°C-15 min, 220°C-5 min, 220°C-10 min, 220°C-15 min, 240°C-5 min, 240°C-10 min, and 240°C-15 min).

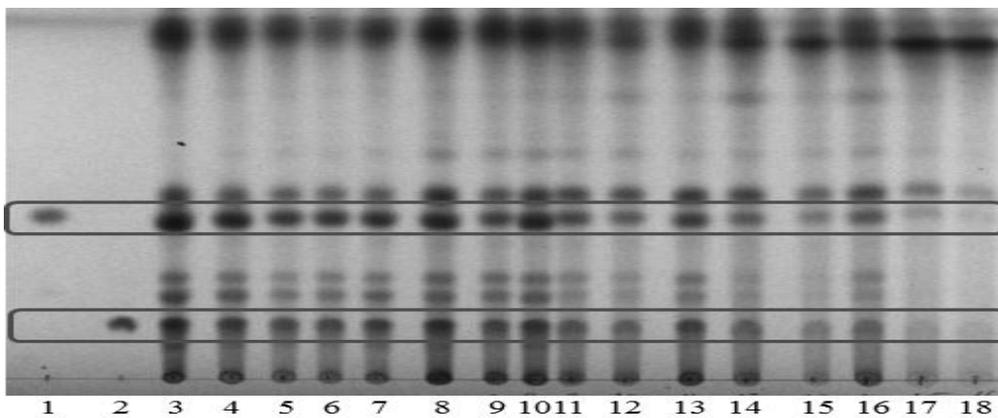


Fig. 4. TLC chromatogram of reference standards and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* and its processed products. 1: liquilitin, 2: glycyrrhizin, 3: Non-processed *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, 4: 160°C-5min, 5: 160°C-10 min, 6: 160°C-15 min, 7: 180°C-5 min, 8: 180°C-10 min, 9: 180°C-15 min, 10: 200°C-5 min, 11: 200°C-10 min, 12: 200°C-15 min, 13: 220°C-5 min, 14: 220°C-10 min, 15: 220°C-15 min, 16: 240°C-5 min, 17: 240°C-10 min, 18: 240°C-15 min

4. 건조감량

감초 및 초감초의 대한약전에 따른 건조감량 측정 결과 평균값이 0.02~7.11%로 나타났으며, 대한약전 건조감량의 기준치 12.0%이하에 적합하였다 (Table 3).

5. 회분

감초 및 초감초의 대한약전에 따른 회분 측정 결과 평균값이 4.4~6.6%로 나타났으며, 대한약전 기준치 7.0%이하에 적합하였다 (Table 3).

6. 산불용성 회분

감초 및 초감초의 대한약전에 따른 산불용성회분 측정 결과 0.7~1.2%로 대한약전 기준치 2.0%이하에 적합하였다 (Table 3).

7. 벤조피렌

벤조피렌은 화석연료 등의 불완전연소 과정에서 생성되는 환경호르몬의 일종으로 인체에 축적될 경우 각종 암을 유발하고 돌연변이를 일으킨다고 알려져 있다. 따라서 220℃ 이상의 고온에

Table 3. The Results of Loss on Drying, Ash, and Acid-insoluble Ash for the Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its Processed Products

| Code | Loss on drying (%) | | | Ash (%) | | | Acid-insoluble ash (%) | | |
|------|--------------------|------|---------|----------|-----|---------|------------------------|-----|---------|
| | Mean (%) | SD | RSD (%) | Mean (%) | SD | RSD (%) | Mean (%) | SD | RSD (%) |
| KP | 12.0% 이하 | | | 7.0% 이하 | | | 2.0% 이하 | | |
| GR1 | 7.11 | 0.08 | 1.14 | 4.6 | 0.1 | 1.9 | 0.7 | 0.1 | 7.3 |
| GR2 | 2.54 | 0.04 | 1.38 | 4.6 | 0.0 | 1.0 | 0.7 | 0.0 | 4.2 |
| GR3 | 6.97 | 0.04 | 0.58 | 4.5 | 0.1 | 1.3 | 0.7 | 0.0 | 7.1 |
| GR4 | 0.02 | 0.00 | 1.36 | 5.0 | 0.0 | 0.8 | 0.8 | 0.1 | 8.4 |
| GR5 | 5.13 | 0.04 | 0.84 | 5.7 | 0.1 | 1.3 | 1.1 | 0.0 | 4.7 |
| GR6 | 6.63 | 0.12 | 1.85 | 4.4 | 0.0 | 0.8 | 0.7 | 0.0 | 4.0 |
| GR7 | 6.19 | 0.02 | 0.37 | 5.0 | 0.0 | 0.9 | 0.7 | 0.0 | 5.8 |
| GR8 | 5.18 | 0.10 | 2.01 | 4.6 | 0.0 | 0.8 | 0.7 | 0.1 | 8.2 |
| GR9 | 0.35 | 0.01 | 1.73 | 4.9 | 0.0 | 0.8 | 0.8 | 0.1 | 10.0 |
| GR10 | 5.11 | 0.11 | 2.14 | 5.1 | 0.0 | 0.8 | 0.7 | 0.0 | 5.2 |
| GR11 | 0.54 | 0.02 | 2.80 | 4.8 | 0.1 | 1.1 | 0.7 | 0.0 | 1.0 |
| GR12 | 5.09 | 0.11 | 2.09 | 5.3 | 0.0 | 0.4 | 0.8 | 0.1 | 7.3 |
| GR13 | 1.45 | 0.03 | 1.99 | 5.5 | 0.0 | 0.5 | 0.8 | 0.1 | 8.2 |
| GR14 | 0.63 | 0.01 | 1.54 | 5.2 | 0.0 | 0.3 | 0.9 | 0.1 | 7.5 |
| GR15 | 0.57 | 0.01 | 2.24 | 5.9 | 0.0 | 0.4 | 1.0 | 0.1 | 6.0 |
| GR16 | 5.62 | 0.16 | 2.78 | 6.6 | 0.0 | 0.1 | 1.2 | 0.1 | 8.1 |

GR1: Non-processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, GR2: 160℃-5 min, GR3: 160℃-10 min, GR4: 160℃-15 min, GR5: 180℃-5 min, GR6: 180℃-10 min, GR7: 180℃-15 min, GR8: 200℃-5 min, GR9: 200℃-10 min, GR10: 200℃-15 min, GR11: 220℃-5 min, GR12: 220℃-10 min, GR13: 220℃-15 min, GR14: 240℃-5 min, GR15: 240℃-10 min, GR16: 240℃-15 min.

서 감초를 수지할 때 이러한 벤조피렌의 생성량

을 조사하고자 식품의약품안전청 고시²²⁾에 따라 시험을 실시하였다. 시료 중 감초와 220℃-10분, 220℃-15분, 240℃-10분 및 240℃-15분 동안 포제 한 초감초 등 5종의 시료에 대해서 벤조피렌 시험을 실시한 결과 0.5, 1.0, 0.5, 0.7 및 0.4 µg/kg으로 각각 나타났다. 이는 감초를 고온에서 포제 할 경우 벤조피렌의 생성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

8. 정량

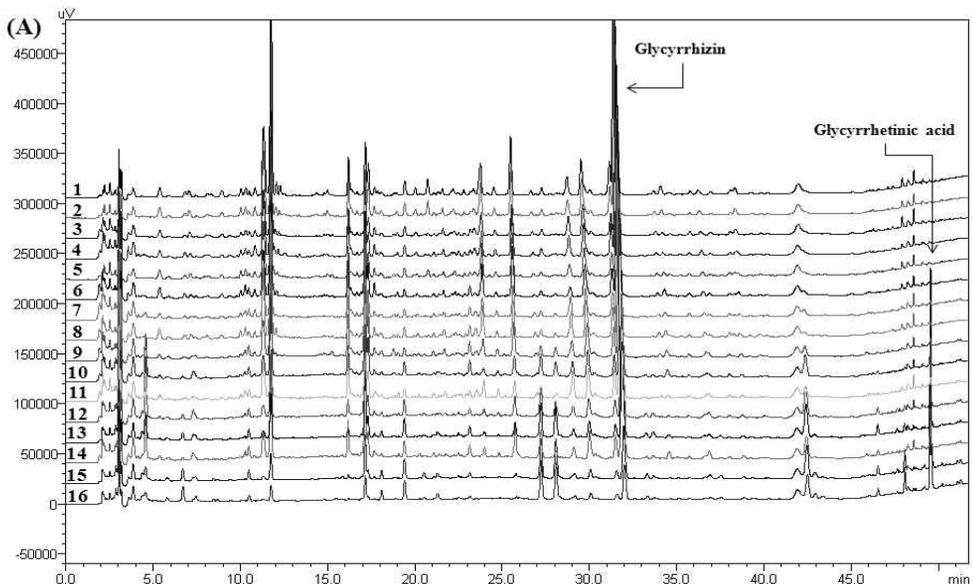
Liquiritin 6.25-400.00 µg/mL, glycyrrhizin 7.81-500.00 µg/mL 및 glycyrrhetic acid 3.13-200.00 µg/mL의 농도 범위에서 검량선을 작성했을 때 상관계수 (r²) 값이 0.9998이상으로

양호한 직선성을 나타내었다 (Table 4). 설정된 HPLC 분석법을 이용하여 감초 및 초감초에서 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid 등 3가지 성분에 대하여 정량분석을 실시하였으며 이들은 11.74분, 31.94분 및 49.55분에서 각각 검출되었다 (Fig. 5). 분석 결과 감초 및 초감초의 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid의 함량은 0.16-2.57%, 0.50-3.52% 및 불검출-0.76%로 각각 나타났다 (Table 5).

Table 4. Calibration Graphs of Three Compounds

| Component | Linear range (µg/mL) | Regression equation ^a | Correlation coefficient (r ²) |
|-------------------|----------------------|----------------------------------|---|
| Liquiritin | 6.25-400.00 | y = 18579.89x + 22019.11 | 0.9999 |
| Glycyrrhizin | 7.81-500.00 | y = 7864.66x - 11797.73 | 1.0000 |
| Glycyrrhetic acid | 3.13-200.00 | y = 13065.95x + 30684.69 | 0.9998 |

^ay: peak area (mAU) of compounds; x: concentration (mg/mL) of compounds.



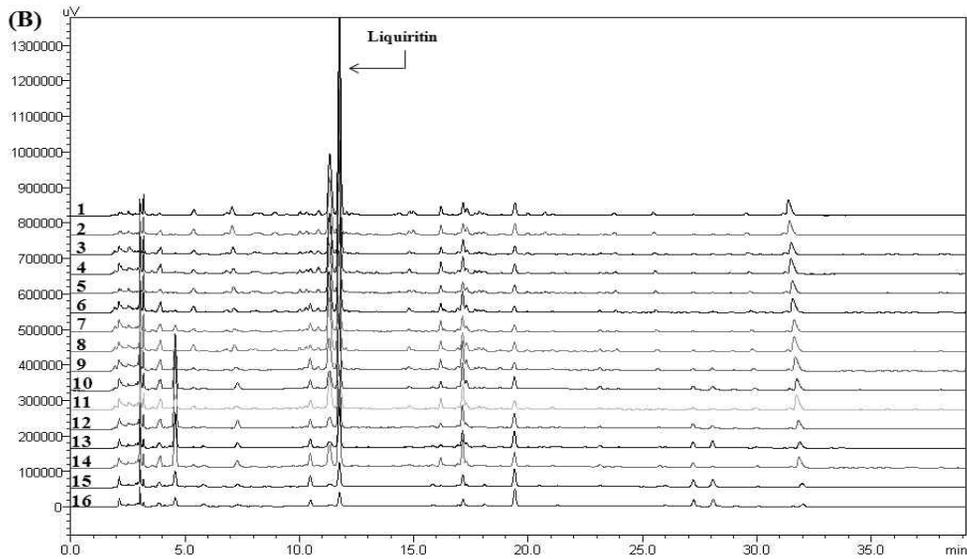


Fig. 5. HPLC profiling of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its processed products at the detection wavelength of 254 nm (A) and 275 nm (B). 1: Non-processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, 2: 160°C-5 min, 3: 160°C-10 min, 4: 160°C-15 min, 5: 180°C-5 min, 6: 180°C-10 min, 7: 180°C-15 min, 8: 200°C-5 min, 9: 200°C-10 min, 10: 200°C-15 min, 11: 220°C-5 min, 12: 220°C-10 min, 13: 220°C-15 min, 14: 240°C-5 min, 15: 240°C-10 min, 16: 240°C-15 min.

IV. 고찰

감초는 예로부터 열독(熱毒) 병증의 열을 내리고 독을 없애며, 폐의 기운을 원활하게 하여 기침을 멎게 하며, 비장을 튼튼하게 하여 기허증을 치료하며 모든 약(藥)을 조화롭게 하는 효능을 가지고 있다.^{1,2)} 한편 감초는 포제법은 문헌과 시대에 따라 조금씩 다르지만 익기양혈(益氣養血), 보비익기(補脾益氣), 보기익비(補氣益脾) 및 보혈안신(補血安神)을 위해 炒를 하여 사용하였다.¹²⁾ 본 분석법에서는 이러한 炮製법 중 어떠한 보조(輔料)도 가하지 않고 약물을 일정하게 볶은 후 방냉(放冷)하는 방법인 淸炒法을 이용하여 시간과 온도에 따라 감초를 포제한 후 HPLC를 이용하여 수치 전·후에 대하여 liquiritin, glycyrrhizin 및 glycyrrhetic acid 등 주요 성분의 정량분석과 건조감량, 회분 및 산불용성회

분 등의 이화학적 데이터를 비교하였다. 대한약전 9개정에서는 감초는 liquiritin 1.0% 이상, glycyrrhizin 2.5% 이상 함유되어야 한다고 제시되어있다. Liquiritin의 경우 포제 전 시료에서는 2.57%로 약전기준에 적합하였으나 포제를 240°C-15분까지 진행할 경우 그 함량은 0.16%로 약 16배 정도 감소하는 경향을 나타내었으며, 이는 약전 기준치에 미치지 못하는 함량이다. Glycyrrhizin의 경우도 liquiritin과 같이 포제전 함량이 3.52%로 나타났으나 포제를 240°C-15분까지 진행하였을 때에는 함량이 0.50%로 약 7배 감소하였다. 측정 결과 포제를 실시한 시료 중 liquiritin의 함량은 200°C-15분 (GR10), 220°C-10분 (GR12), 220°C-15분 (GR13), 240°C-5분 (GR14), 240°C-10분 (GR15) 및 240°C-15분 (GR16)에서 약전기준치인 1.0%에 미치지 못하였으며, glycyrrhizin은 200°C-15분 (GR10), 220°C-10분 (GR12), 220°C-15분 (GR13), 24

Table 5. Analytical Results (%) of the Three Marker Compounds in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its Processed Products

| Code | Content (%) | | | | | | | | |
|------|-------------|------|---------|--------------|------|---------|-------------------|------|---------|
| | Liquiritin | | | Glycyrrhizin | | | Glycyrrhetic acid | | |
| | Mean | SD | RSD (%) | Mean | SD | RSD (%) | Mean | SD | RSD (%) |
| GR1 | 2.57 | 0.01 | 0.43 | 3.52 | 0.03 | 0.77 | ND ^a | - | - |
| GR2 | 2.18 | 0.01 | 0.59 | 3.15 | 0.05 | 1.56 | ND | - | - |
| GR3 | 2.06 | 0.03 | 1.40 | 2.62 | 0.04 | 1.54 | ND | - | - |
| GR4 | 2.46 | 0.01 | 0.28 | 3.67 | 0.02 | 0.55 | ND | - | - |
| GR5 | 1.90 | 0.01 | 0.32 | 2.75 | 0.02 | 0.78 | ND | - | - |
| GR6 | 1.89 | 0.01 | 0.39 | 3.22 | 0.03 | 0.98 | ND | - | - |
| GR7 | 1.29 | 0.01 | 0.63 | 2.71 | 0.02 | 0.80 | ND | - | - |
| GR8 | 2.23 | 0.00 | 0.14 | 3.53 | 0.02 | 0.50 | ND | - | - |
| GR9 | 1.46 | 0.02 | 1.47 | 3.27 | 0.04 | 1.18 | 0.01 | 0.00 | 2.55 |
| GR10 | 0.97 | 0.01 | 0.89 | 2.61 | 0.01 | 0.23 | 0.10 | 0.00 | 0.34 |
| GR11 | 1.37 | 0.02 | 1.35 | 3.44 | 0.05 | 1.44 | 0.02 | 0.00 | 0.83 |
| GR12 | 0.81 | 0.01 | 0.97 | 1.86 | 0.03 | 1.43 | 0.23 | 0.00 | 0.32 |
| GR13 | 0.50 | 0.01 | 2.38 | 1.44 | 0.02 | 1.55 | 0.35 | 0.00 | 1.33 |
| GR14 | 0.95 | 0.01 | 1.02 | 2.50 | 0.00 | 0.17 | 0.13 | 0.00 | 0.57 |
| GR15 | 0.30 | 0.00 | 0.58 | 0.72 | 0.01 | 1.68 | 0.68 | 0.01 | 0.87 |
| GR16 | 0.16 | 0.00 | 0.69 | 0.50 | 0.01 | 1.50 | 0.76 | 0.01 | 0.89 |

^aND means not detected.

GR1: Non-processed Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, GR2: 160°C-5 min, GR3: 160°C-10 min, GR4: 160°C-15 min, GR5: 180°C-5 min, GR6: 180°C-10 min, GR7: 180°C-15 min, GR8: 200°C-5 min, GR9: 200°C-10 min, GR10: 200°C-15 min, GR11: 220°C-5 min, GR12: 220°C-10 min, GR13: 220°C-15 min, GR14: 240°C-5 min, GR15: 240°C-10 min, GR16: 240°C-15 min.

0°C-10분 (GR15) 및 240°C-15분 (GR16)에서 약전기준치인 2.5%에 미치지 못하는 것으로 나타났다. 또한 시간과 온도에 따라 포제를 진행함으로써 약 50분에 증가하는 피크를 확인하였다. 이 피크는 glycyrrhizin에서 열에 의해 당이 하나 떨어진 glycyrrhetyl 3-monoglucuronide를 거쳐 당이 모두 떨어져 생성되는 glycyrrhetic acid로 확인하였다.¹²⁾ Glycyrrhetic acid의 함량변화는 생감초 (GR1)에서 200°C-5분 (GR8)까

지의 시료에서는 검출이 되지 않았으나 그 이후 200°C-10분 (GR9) 시료부터 서서히 증가하여 240°C-15분 (GR16)에서는 최고치인 0.76%까지 증가하였다. 또한 감초의 수처에 대한 관능검사 결과 180°C-10분과 200°C-5분이 적당한 것으로 선정되었다. 이상의 이화학적 분석과 관능검사를 종합하였을 때 liquiritin과 glycyrrhizin을 기준으로 200°C-5분이 최적의 포제 방법으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 대한약전 9개정에 수록되어 있는 감초의 liquiritin과 glycyrrhizin 두 성분에 대하여 시간 (5, 10 및 15분)과 온도 (160, 180, 200, 220 및 240℃)에 따라 포제 할 경우 두 성분의 함량변화를 측정하고자 하였다. 포제를 실시할 경우 liquiritin의 함량은 160℃-15분, 200℃-5분 및 220℃-5분에서 2.46%, 2.23% 및 1.37% 순으로 나타났다. 또한 glycyrrhizin의 경우도 liquiritin과 같이 함량이 160℃-15분, 200℃-5분 및 220℃-5분에서 3.67%, 3.53% 및 3.44% 순으로 나타났다. Glycyrrhizin이 열에 의해서 당이 떨어져 생성되는 glycyrrhetic acid의 함량 변화는 포제가 진행될수록 많이 검출되었으며 240℃-15분에서 최대치인 0.76%로 나타났으며, 240℃-10분과 220℃-15분에서 0.68% 및 0.35%의 순으로 나타났다.

VI. 감사의 글

본 논문은 2012년도 지식경제부의 재원으로 지역연고산업육성사업(R0001989)인 우수 한약재 유통을 위한 공동브랜드 육성사업(D12030)의 지원을 받아 수행된 연구임.

참고문헌

1. 생약학교재편찬위원회. 생약학. 서울, 동명사, pp.104-107. 2012.
2. 한방약리학교재편찬위원회. 한방약리학. 서울:신일북스. 2010: 116-120.
3. Han SB, Gu HA, Kim SJ, Kim HJ, Kwon SS, Kim HS, Jeon SH, Hwang JP, Park SN. Comparative study on antioxidative activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extracts by country of origin. *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 39(1):1-8, 2013.
4. Kim SJ, Kweon DH, Lee JH. Investigation

of antioxidative activity and stability of ethanol extract of licorice roots (*Glycyrrhiza glabra*). *Korean J Food Sci Technol.*, 38(4), 584-588, 2006.

5. Yoon TS, Cheon MS, Kim SJ, Lee AY, Moon BC, Chun JM, Choo BK, Kim HK. Evaluation of solvent extraction on the anti-inflammatory efficacy. *Korean J Medicinal Crop Sci.*, 18(1), 28-33, 2010.
6. Wang W, Luo M, Fu Y, Wang S, Efferth T, Zu Y. Glycyrrhizic acid nanoparticles inhibit LPS-induced inflammatory mediators in 264.7 mouse macrophages compared with unprocessed glycyrrhizic acid. *Int J Nanomedicine*, 8(1), 1377-1383, 2013.
7. Yang XL, Liu D, Bian K, Zhand DD. Study on in vitro anti-inflammatory activity of total flavonoids from *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* and its ingredients. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 38(1), 99-104, 2013.
8. Ahn EY, Shin DH, Back NI, Oh JA. Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis*. *Korean J Food Sci Technol.*, 30(3), 680-687, 1998.
9. Park JH, Wu Q, Yoo KH, Yong HI, Cho SM, Chung IS, Back NI. Cytotoxic effect of flavonoids from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* on human cancer cell lines. *J Appl Biol Chem.*, 54(1), 67-70, 2011.
10. Feng Yeh C, Wang KC, Chiang LC, Shieh DE, Yen MH, San Chang J. Water extract of licorice had anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines. *J Ethnopharmacol.*, 148(2), 466-473, 2013.

11. Adianti M, Aoki C, Komoto M, Deng L, Shoji I, Wahyuni TS, Lusida MI, Soetjipto, Fuchino H, Kawahara N, Hotta H. Anti-hepatitis C virus compounds obtained from *Glycyrrhiza uralensis* and other *Glycyrrhiza* species. *Microbiol Immunol.*, 58(3), 180-187, 2014.
12. 동의학연구소. 한약제법. 서울, 여강출판사, p.62. 1994.
13. Lee JR, Jo MJ, Park SM, Kim SC, Park SJ. Establishment of UPLC method for analysis of liquiritigenin and studies on the processing of licorice for enhancement of liquiritigenin content. *Korean J Oriental Med Prescrip.*, 18(1), 145-154, 201.
14. Kim JS, Kim HJ, Ma JY, Kim JM. Studies on the processing of herbal medicines (II) - HPLC analysis of standard compounds of unprocessed- and processed herbal medicines - *Kor J Pharmacogn.*, 33(4), 305-307, 2002.
15. 강병수, 서부일, 최호영. 한약 포제와 임상 응용. 서울, 영림사, pp.46-69. 2003.
16. Woo KS, Jang KI, Kim KY, Lee JB, Jeong JS. Antioxidative activity of heat treated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts. *Korean J Food Sci Technol.*, 38(3), 355-360, 2006.
17. Hwang IK, Lim SS, Choi KH, Yoo KY, Shin HK, Kim EJ, Yoon-Park JH, Kang TC, Kim YS, Kwon DY, Kim DW, Moon WK, Won MH. Neuroprotective effects of roasted licorice, not raw form, on neuronal injury in gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *Acta Pharmacol Sin.*, 27(8), 959-965, 2006.
18. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회 편저. 본초학. 서울, 영림사, p.587. 2004.
19. 식품의약품안전청. 대한약전외한약(생약) 규격집. 식약청고시 제2011-26호. 2011.
20. 한국약학대학협의회 약전분과회. 제9개정 대한약전해설서 II. 서울, 신일북스, p.1099. 2008.
21. 한국약학대학협의회 약전분과회. 제9개정 대한약전해설서 I. 서울, 신일북스, pp.103-105. 2008.
22. 식품의약품안전청. 식품의약품안전청 고시 제2011-42호. 2011.