

수치에 따른 결명자 주요 Anthraquinone의 함량분석

서창섭¹ · 김정훈¹ · 신현규¹ · 황석연² · 김병수^{3*}

¹한국한의학연구원 한약방제연구그룹, ²대전대학교 자연과학대학, ³대전대학교 한의과대학

Quantitative Analysis of Anthraquinones in Cassiae Semen by Processing Method

Chang-Seob Seo¹, Jung-Hoon Kim¹, Hyeun-Kyoo Shin¹, Seock-Yeon Hwang², and Byoung-Soo Kim^{3*}

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

1672 Yuseongdae-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea

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

62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 300-716, Korea

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

62 Daehak-ro, Dong-gu, Daejeon 300-716, Korea

Abstract – In this study, we performed quantification determination of four major components including aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol, and physcion in the 70% ethanol extracts of non-processed Cassiae Semen and processed Cassiae Semen using a high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array detector. The analytical column for separation of the 4 constituents used a Gemini C₁₈ column kept at 40°C by the gradient elution with 1.0% (v/v) acetic acid in water and 1.0% (v/v) acetic acid in acetonitrile as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min and the injection volume was 10 µL. The amount of aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol, and physcion in non-processed Cassiae Semen were 0.07%, 0.02%, 0.25%, and 0.10%, respectively. The amount of aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol, and physcion in processed Cassiae Semen were 0.04-0.14%, 0.01-0.03%, 0.02-0.42%, and 0.01-0.24%, respectively. Consequently, the optimal processing condition of Cassiae Semen for the improvements of amounts of four anthraquinone compounds was obtained by roasting at 240°C for 15 min.

Key words – Cassiae Semen, Processing method, Aurantio-obtusin, Emodin, Chrysophanol, Physcion

생약은 식물성, 동물성 및 광물성 등의 천연물질로 이루어져 있다. 이러한 생약을 한의학 이론에 따라 처리하여 약성(藥性)을 변화시키거나 독성과 부작용을 약화 또는 제거 및 특정 약효를 증강시키기 위해 수치(修治)라는 한방 제제 기술을 사용 한다.¹⁾ 수치에는 초제법(炒製法), 탕제법(燙製法), 자제법(炙製法), 단제법(煅製法), 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 있으며 그 중 결명자는 초제법 중 어떠한 보료(輔料)도 가하지 않고 약물을 일정하게 볶은 후 방냉(放冷)하는 방법인 청초법(淸炒法)을 주로 사용한다.²⁾ 결명자(Cassiae Semen)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 초결명(*Cassia obtusifolia* L.) 또는 긴강

남자(*Cassia tora* L.)의 씨를 약용으로 사용하며, 예로부터 긴을 시원하게 하여 눈을 맑게 하는 청간명목(淸肝明目), 음허에 의하여 간양(肝陽)이 상승하는 것을 치료하고 간의 내풍(內風)을 평하게 하는 평간잠양(平肝潛陽) 및 장(腸)을 적셔주고 대변(大便)을 통하게 하는 윤장통변(潤腸通便) 등의 효능이 있다.^{3,4)} 결명자의 주요 성분으로는 chrysophanol, physcion, emodin, aloë-emodin, obtusin, chryso-sbtusin 및 aurantio-obtusin 등과 같은 anthraquinone류와 glucoobtusifolin, glucochryso-obtusin 및 glucoaurantio-otusin 등과 같은 anthraquinone glycoside류 및 torachrysone, toralactone, rubrofusarin, cassiaside 등과 같은 naphthalene 유도체 등이 보고되었다.³⁻⁵⁾ 결명자는 항당뇨,^{6,7)} 신경보호,⁸⁾ 항진균작용,⁹⁾ 간 보호,^{10,11)} 돌연변이 억제,¹²⁾ 항산화,¹³⁾ 혈소판 응집 억제¹⁴⁾ 및 면역증강¹⁵⁾ 효과 등 다양한 생리활성 효능이 보고되었다.

*교신저자(E-mail): kbsoo@dju.kr
(Tel): +82-42-280-2616

그러나 결명자를 사용할 시에 생재료는 비린 냄새가 나서 수치하여 사용하면 맛이 좋고 잘 달여지는 장점이 있다.¹⁶⁾ 또한 수치할 때 겉껍질이 터져서 방향성 냄새가 날 때까지 볶는 것이 좋고 지나치게 볶으면 안된다.¹⁶⁾ 따라서 결명자의 적정한 수치 기준에 관한 연구로는 이 등¹⁷⁾과 주 등¹⁸⁾이 시간과 온도에 따라 볶은 후 항산화 활성과 균체증식에 미치는 영향에 대해 각각 보고하였으며 김¹⁹⁾ 등은 볶음 조건에 따른 향기성분의 변화에 대하여 연구 보고하였다. 본 연구자들은 결명자의 주요 성분인 aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol 및 physcion을 대상으로 시간과 온도에 따른 청초법으로 수치한 후 이를 성분의 수치 전후에 대한 함량 변화와 건조감량, 회분 및 산불용성회분 등의 이화학적 데이터를 비교하여 결명자의 수치에 대한 기초자료를 제공하고자 본 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용된 결명자는 광명당제약(Ulsan, Korea)에서 규격품을 구입하여 동국대학교 한의과대학 이제현 교수(Gyeongju, Korea)와 대전대학교 한의과대학 서영배 교수(Daejeon, Korea) 등 2인의 전문가로부터 감정 후 사용하였다. 결명자 표본(2012-RISCS)은 한국한의학연구원 한약방제연구그룹에 보관하였다.

시약 및 기기 – 표준물질인 aurantio-obtusin, emodin 및 chrysophanol은 Biopurify Biochemical Ltd.(Chengdu, China)에서 구입하였으며, physcion은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 이들 4종 표준품의 순도는 98.0% 이상으로 확인되었다. 정량분석을 위한 메탄올, 아세토나이트릴 및 물은 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였으며, 초산은 Junsei(Tokyo, Japan)에서 구입하였다. 그 외의 시약은 HPLC 또는 특급 시약을 구입하여 사용하였다. 함량분석은 delivery unit(LC-20AT), online degasser (DGU-20A₃), column oven(CTO-20A), auto sample injector (SIL-20AC) 및 PDA detector(SPD-M20A)로 구성된 Shimadzu Prominence LC-20A series(Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며, 데이터 수집과 처리에는 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.

한약재 수치 – 구입된 결명자 규격품에 대하여 온도(160, 180, 200, 220 및 240°C)와 시간(5, 10, 15 및 20분)별로 포제 하였다. 포제 전 해당 온도에서 예비가열을 한다. 기준에 따른 온도에 도달했을 때 결명자를 넣고 조건대로 조작

을 하여 포제하였다. 결명자의 온도 및 시간별 포제의 조건은 다음과 같다. 포제하지 않은 원 생약(Cassiae Semen; CS1), 160°C-5분(CS2), 160°C-10분(CS3), 160°C-15분(CS4), 160°C-20분(CS5), 180°C-5분(CS6), 180°C-10분(CS7), 180°C-15분(CS8), 180°C-20분(CS9), 200°C-5분(CS10), 200°C-10분(CS11), 200°C-15분(CS12), 200°C-20분(CS13), 220°C-5분(CS14), 220°C-10분(CS15), 220°C-15분(CS16), 220°C-20분(CS17), 240°C-5분(CS18), 240°C-10분(CS19), 240°C-15분(CS20), 240°C-20분(CS21). 포제가 완료되면 실온에서 냉각시킨 후 polyethylene:polypropylene(1:1) bag으로 포장하여 냉장 보관하면서 분석에 사용하였다.

관능검사 – 清炒法을 이용하여 炮製하는 결명자에 대하여 적절한 온도와 시간을 설정을 설정하기 위하여 포제 된 생약에 대하여 본초학 교재²⁰⁾를 바탕으로 대전대학교 한의과대학 서영배 교수와 동국대학교 한의과대학 이제현 교수 2인의 본초학 전문가에 의해 관능검사를 실시하였다.

확인시험 – 대한약전의 결명자 확인 시험법²¹⁾에 따라 이 약의 가루를 Desiccator(Silica gel)에서 48시간 말린 다음 0.1 g을 슬라이드 글라스 위에 놓고 안지름과 높이 각 10 mm의 유리고리를 얹고 물로 적신 여과지를 위에 덮어 천천히 가열하였다. 여과지 윗부분이 황색을 띠면 여과지를 꺼내고 승화물이 붙어 있는 자리에 수산화칼륨시액 1방울을 떨어뜨릴 때 적색을 띠는 것을 확인하였다.

건조감량 – 대한약전의 생약시험법²²⁾에 따라 칭량병을 미리 105°C에서 1시간 건조한 후 그 무게를 정밀하게 달았다. 그 후 무게를 단 칭량병에 시료 약 2 g을 넣어 그 총의 높이가 5 mm 이하가 되도록 편 다음 무게를 정밀하게 측정하여 105°C에서 5시간 건조하여 desiccator에서 식힌 후 칭량병을 꺼내어 그 무게를 정밀하게 달아 건조감량(%)을 계산하였다.

회분 – 대한약전의 생약시험법²²⁾에 따라 도가니를 미리 550°C에서 1시간 강열하여 Desiccator에서 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.

산불용성회분 – 대한약전의 생약시험법²²⁾에 따라 회분에 묽은 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 Desiccator에서 방냉 한 후 그 무게를 정밀하게 달아 산불용성회분량(%)으로 하였다.

벤조피렌시험 – 결명자와 결명자초(220°C-15분, 220°C-20분, 240°C-15분 및 240°C-20분)에 대하여 식품의약품안전청 고시²³⁾에 따라 시료를 약 5.0 g을 정밀하게 달아 물 100 mL

를 넣어 90분간 초음파 추출하였다. 여기에 헥산 약 100 mL 및 내부표준액 1 mL을 넣어 Homogenizer로 5분간 균질하게 섞은 다음 30분간 초음파 추출하였다. 헥산층을 분액깔대기에 옮기고 다시 물층에 헥산 약 50 mL씩을 넣고 2회 반복하여 진탕 추출한 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 헥산 20 mL를 순서대로 초당 2~3 방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 후 사용하였다. 활성화된 카트리지에 위의 추출용액을 넣어 헥산:디클로로메탄혼합액(3:1) 20 mL를 초당 2~3방울의 속도로 용출시켰다. 이 용출된 액을 35°C이하의 수욕상에서 질소가스 하에 날려 보낸 후 잔류물을 아세토니트릴 1 mL에 녹인 다음 공경 0.45 μm 이하의 멤브레인필터(Woongki Science, Seoul, Korea)로 여과하여 검액으로 하였다. 따로 벤조피렌표준품 및 3-페틸콜란트렌표준품 적당량을 정밀하게 달아 각각 아세토니트릴에 녹여 mL당 1 μg을 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 μL씩을 가지고 Table I의 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하였으며, 각 표준액에서 얻은 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피

렌의 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-페틸콜란트렌 표준품을 정밀하게 달아 아세토니트릴에 녹여 1 mL 중 50 ng을 함유하는 용액으로 하였다.

정량

1) HPLC 분석조건

결명자의 주요성분인 aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol 및 physcion(Fig. 1)에 대하여 함량 분석을 위해 Table II의 조건에 따라 LC-20A series HPLC(Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 측정하였다.

2) 표준액 및 검액 조제

Aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol 및 physcion 표준품에 대한 표준용액은 무게를 정확하게 측정한 후 메탄올로 녹여 모두 1.0 mg/mL의 농도로 조제한 후 4°C에 보관하면서 사용 전에 희석하여 사용하였다.

Table II. HPLC conditions for quantitative analysis

Item	Conditions
Detector(nm)	Fluorescence detector (Excitation wavelength : 294 nm, Emission wavelength : 404 nm)
Column	Supelcosil LC-PAH(5 μm, 4.6×250 mm)
Column oven(°C)	37
Flow rate(mL/min)	1.0
Injection volume(μL)	10.0
Mobile phase	Acetonitrile : Water(8 : 2)

Item	Conditions
Detector(nm)	285
Column	Gemini C ₁₈ (5 μm, 4.6×250 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 0-30 min, 50-90% B, 30-35 min, 90% B, 35-40 min, 90-50% B, 40- 50 min, 50% B

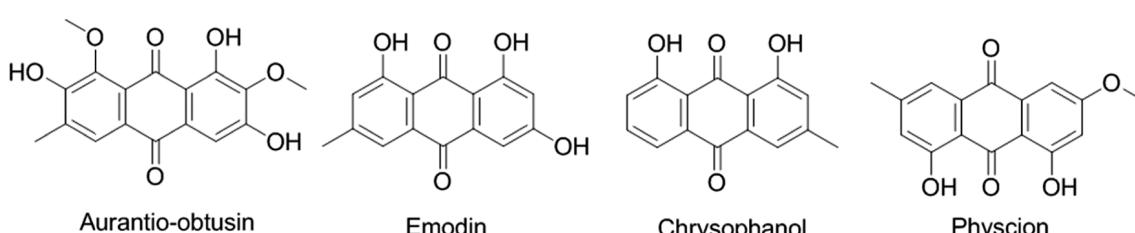


Fig. 1. Chemical structures of four marker compounds of Cassiae Semen.

검액은 결명자 및 결명자초 분말 약 500 mg을 정밀하게 달아 70% 에탄올을 넣어 50 mL로 한 후 60분간 초음파추출 한 후 0.2 µm syringe filter(SmartPor, Woongki Science, Seoul, Korea)로 여과하여 검액으로 사용하였다.

결과 및 고찰

결명자(초) 포제 – 결명자는 비린 냄새가 심하여 그대로 사용하는 것보다 초를 하여 사용하는 것이 일반적이다. 따

라서 결명자의 적절한 포제 방법을 설정하고자 시중 유통 품인 결명자를 구입하여 시간(5, 10, 15, 및 20분)과 온도(160, 180, 200, 220 및 240°C)에 따라 포제를 실시하였다. 유통 결명자와 포제된 결명자를 Fig. 2에 나타내었다.

관능검사 – 결명자는 平肝潛陽, 明目的 효능을 높이기 위해 炒하여 사용하는데, 種皮가 開裂되었지만 내부가 탄화된 것(CS11, CS12, CS13, CS15 및 CS16)은 제외하고 외부의 색상이 변한 정도와 내부의 상태를 기준으로 하였다. 본 실험에서는 180°C-15분과에서 180°C-20분 동안 가열하는 것

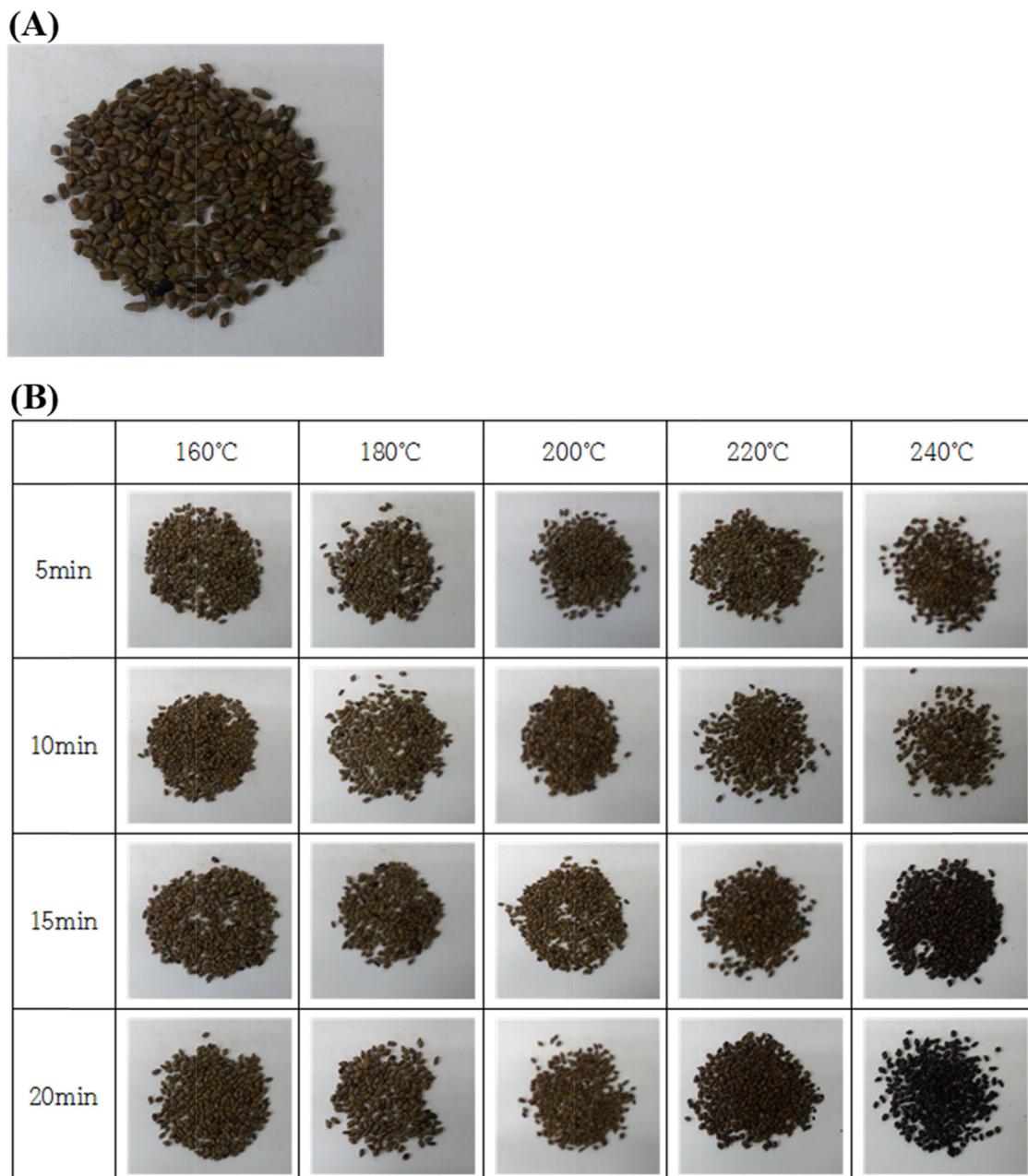


Fig. 2. A macroscopic picture of non-processed Cassiae Semen(A) and the processed Cassiae Semen produced by ‘plain stir-baking’ with various times and temperatures(B).

을 결명자의 炒法에 적절한 약재로 판단하였다.

확인시험 – 대한약전 기준에 따라 결명자 및 결명자초의 확인시험 결과 승화물이 붙어 있는 자리에 수산화 칼륨시액 1방울을 떨어뜨릴 때 모두 적색으로 변한 것으로 보아 대한약전 기준에 적합한 것으로 사료된다.

건조감량 – 결명자 및 결명자초의 대한약전에 따른 건조감량 측정 결과 평균 및 표준편자는 $2.35 \pm 1.14\% (n=3)$ 이었고 각각의 시료에 따라 $0.63 \sim 4.92\%$ 로 나타났으므로 결명자의 건조감량은 5.00% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 사료된다(Table III).

회분 – 결명자 및 결명자초의 대한약전에 따른 회분 측정 결과 평균 및 표준편자는 $4.12 \pm 0.55\% (n=3)$ 이었고 각각의 시료 평균값이 $2.67 \sim 4.69\%$ 로 나타났으며, 이는 대한약전 기준치 5.0% 이하에 적합하였다(Table III).

산불용성 회분 – 결명자 및 결명자초의 대한약전에 따른 산불용성회분 측정 결과 평균 및 표준편자는 $0.87 \pm 0.24\%$

($n=3$)이었고 각각의 시료에 대한 평균값이 $0.58 \sim 1.33\%$ 로 나타났으므로 결명자의 산불용성 회분은 1.50%로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다(Table III).

벤조피렌 – 벤조피렌은 화석연료 등의 불완전연소 과정에서 생성되는 환경호르몬의 일종으로 인체에 축적될 경우 각종 암을 유발하고 돌연변이를 일으킨다고 알려져 있다. 따라서 220°C 이상의 고온에서 결명자를 수치할 때 이러한 벤조피렌의 생성량을 조사하고자 식품의약품안전청 고시²³⁾에 따라 시험을 실시하였다. 시료 중 생결명자와 $220^{\circ}\text{C}-15$ 분, $220^{\circ}\text{C}-20$ 분, $240^{\circ}\text{C}-15$ 분 및 $240^{\circ}\text{C}-20$ 분 동안 포제 한 결명자초 등 5종의 시료에 대해서 벤조피렌 시험을 실시한 결과 0.6, 불검출, 불검출, 불검출 및 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 각각 나타났다. 이는 결명자를 고온에서 포제 할 경우 벤조피렌의 생성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

정량 – 결명자의 성분 분석에 대한 연구는 Zhang 등²⁴⁾과 Xu 등²⁵⁾이 13종과 8종의 anthraquinones에 대하여 LC-MS

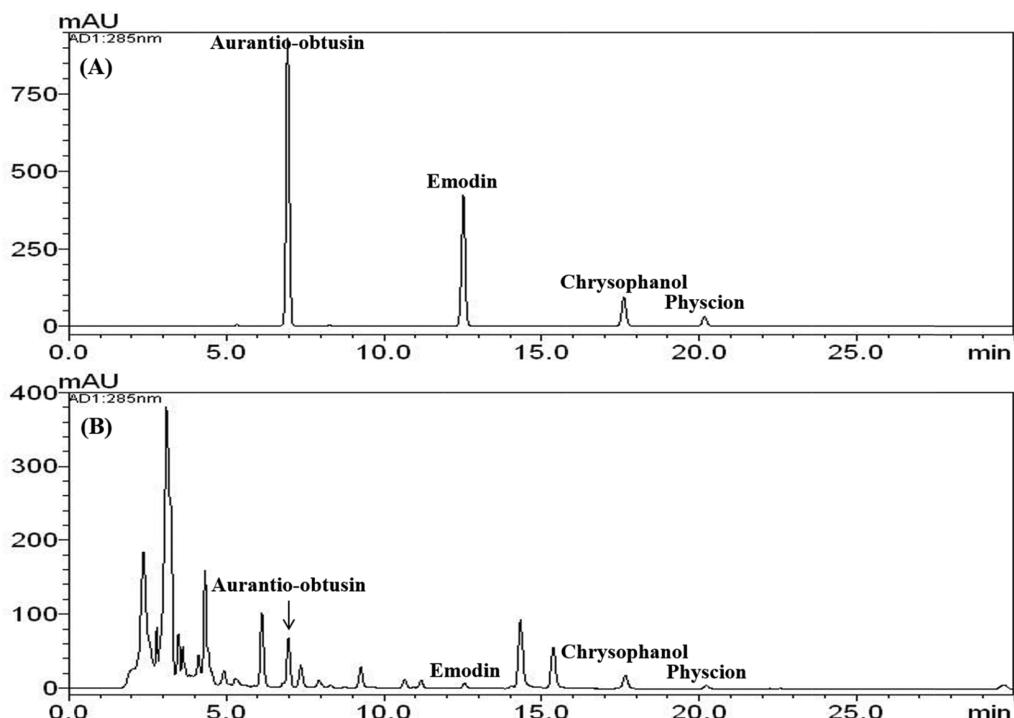
Table III. The results of loss on drying, ash, and acid-insoluble ash for the Cassiae Semen and its processed products($n=3$)

Samples	Loss on drying(%)			Ash(%)			Acid-insoluble ash(%)		
	Mean(%)	SD	RSD(%)	Mean(%)	SD	RSD(%)	Mean(%)	SD	RSD(%)
KP	-			5.0%			-		
CS1	4.36	0.02	0.47	3.85	0.25	6.53	0.72	0.11	15.05
CS2	4.61	0.08	1.78	4.69	0.35	7.48	0.83	0.06	7.33
CS3	3.25	0.03	0.88	4.55	0.41	8.98	1.29	0.24	18.32
CS4	2.97	0.06	2.13	4.47	0.16	3.57	0.78	0.12	14.80
CS5	2.74	0.03	1.04	3.92	0.19	4.92	0.82	0.08	9.27
CS6	4.25	0.04	0.95	4.65	0.23	4.91	0.74	0.12	16.44
CS7	2.57	0.04	1.42	4.01	0.15	3.73	1.25	0.03	2.56
CS8	2.28	0.02	0.77	4.64	0.14	2.99	1.33	0.17	12.38
CS9	1.66	0.01	0.76	3.84	0.20	5.17	0.71	0.02	3.27
CS10	3.50	0.04	1.26	4.20	0.22	5.15	0.96	0.17	17.66
CS11	1.83	0.02	1.26	3.75	0.22	5.80	0.80	0.14	17.50
CS12	1.98	0.04	1.86	4.01	0.29	7.26	0.61	0.12	19.25
CS13	1.70	0.02	1.14	3.96	0.09	2.16	0.83	0.12	14.43
CS14	2.77	0.06	2.17	2.67	0.22	8.11	0.79	0.10	12.75
CS15	1.42	0.02	1.16	4.51	0.17	3.70	0.58	0.03	4.31
CS16	1.04	0.03	2.98	4.56	0.33	7.29	0.91	0.08	8.85
CS17	1.13	0.02	2.01	4.62	0.23	5.00	0.69	0.12	17.50
CS18	2.16	0.01	0.36	4.44	0.22	4.99	0.94	0.06	6.64
CS19	0.78	0.01	0.88	3.39	0.29	8.44	0.59	0.04	6.89
CS20	1.34	0.02	1.84	4.47	0.15	3.42	1.19	0.20	16.97
CS21	0.93	0.03	2.70	3.41	0.18	5.25	0.89	0.11	12.51

CS1, Non-processed; CS2, $160^{\circ}\text{C}-5$ min; CS3, $160^{\circ}\text{C}-10$ min; CS4, $160^{\circ}\text{C}-15$ min; CS5, $160^{\circ}\text{C}-20$ min; CS6, $180^{\circ}\text{C}-5$ min; CS7, $180^{\circ}\text{C}-10$ min; CS8, $180^{\circ}\text{C}-15$ min; CS9, $180^{\circ}\text{C}-20$ min; CS10, $200^{\circ}\text{C}-5$ min; CS11, $200^{\circ}\text{C}-10$ min; CS12, $200^{\circ}\text{C}-15$ min; CS13, $200^{\circ}\text{C}-20$ min; CS14, $220^{\circ}\text{C}-5$ min; CS15, $220^{\circ}\text{C}-10$ min; CS16, $220^{\circ}\text{C}-15$ min; CS17, $220^{\circ}\text{C}-20$ min; CS18, $240^{\circ}\text{C}-5$ min; CS19, $240^{\circ}\text{C}-10$ min; CS20, $240^{\circ}\text{C}-15$ min; CS21, $240^{\circ}\text{C}-20$ min

Table IV. Calibration curves of four compounds

Component	Linear range($\mu\text{g/mL}$)	Slope	Intercept	Correlation coefficient(r^2)
Aurantio-obtusin	1.56-100.00	69470.00	40666.43	0.9995
Emodin	0.47-30.00	36891.92	-1744.61	1.0000
Chrysophanol	1.37-87.50	7493.36	-68.76	0.9999
Physcion	1.22-78.10	4214.51	-15.62	1.0000

**Fig. 3.** HPLC chromatograms of a standard solution(A, each 100 $\mu\text{g/mL}$) and 70% ethanol extract of non-processed Cassiae Semen(B).

와 HPLC-DAD를 이용하여 분석법을 설정하고 이에 대한 검증을 실시하였다. 이에 본 저자들은 결명자에 포함된 4종의 anthraquinones을 대상으로 수치 전·후에 대하여 함량의 변화를 분석하였다. 함량분석을 위한 4종, aurantio-obtusin 1.56-100.00 $\mu\text{g/mL}$, emodin 0.47-30.00 $\mu\text{g/mL}$, chrysophanol 1.37-87.50 $\mu\text{g/mL}$ 및 physcion 1.22-78.10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도 범위에서 검량선 작성 결과 상관계수(r^2)가 0.9995이상의 양호한 직선성을 나타내었다(Table IV). 이는 1.00에 가까운 직선성으로 본 검량선의 직선성이 매우 좋음을 나타낸다. Fig. 3과 같이 HPLC-PDA를 이용하여 결명자 및 결명자초에서 4가지 주요 성분은 6.96분(aurantio-obtusin), 12.54분(emodin), 17.64분(chrysophanol) 및 20.21분(physcion)에 각각 검출되었다. 설정된 분석법을 이용하여 aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol 및 physcion 등 4종의 성분에 대하여 시간과 온도에 따라 포제 할 경우 이들 성분의 변화를 HPLC로 측정하였다. 결명자 및 결명자초의 aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol 및 physcion의 함량 분석 결과 0.04-0.14%,

0.01-0.03%, 0.02-0.42% 및 0.01-0.24%로 각각 나타났다 (Table V). 함량 분석 결과를 보면 4가지 성분 모두 시간과 온도에 따른 포제를 실시할 경우 포제하지 않은 원생약에서의 성분 함량보다 높은 결과를 나타내었다. Aurantio-obtusin의 경우 포제 전 함량은 0.07%로 검출되었으나 240°C에서 15분간 수치 한 CS20에서 최고치인 0.14%를 비롯하여 240°C에서 10분간 수치 한 CS19, 220°C에서 20분간 수치 한 CS17 및 220°C에서 15분간 수치 한 CS16에서 0.13%, 0.12% 및 0.12%의 함량을 보였다. Emodin은 포제 전 원 생약인 CS1의 함량이 0.02%로 검출되었으나 CS16, CS17, CS19, CS20 및 CS21에서 최고치인 0.03%로 높은 함량을 보였다. Chrysophanol은 포제 전 함량은 0.25%로 다른 성분에 비해 비교적 많이 검출되었다. 그러나 CS20(240°C, 15분)에서 포제를 할 경우 포제 전 함량보다 높은 0.42%로 높은 함량을 보였으며, CS21(240°C, 20분), CS19(240°C, 10분), CS17(220°C, 20분) 및 CS16(220°C, 15분)에서 0.36%, 0.35%, 0.33% 및 0.33%로 각각 검출 되

Table V. Analytical results(%) of the four marker compounds in Cassiae Semen and its processed products($n=3$)

Samples	Content(%)											
	Aurantio-obtusin			Emodin			Chrysophanol			Physcion		
	Mean(%)	SD	RSD(%)	Mean(%)	SD	RSD(%)	Mean(%)	SD	RSD(%)	Mean(%)	SD	RSD(%)
CS1	0.07	0.00	0.83	0.02	0.00	2.89	0.25	0.00	1.21	0.10	0.00	0.64
CS2	0.04	0.00	1.38	0.01	0.00	1.77	0.02	0.00	0.39	0.01	0.00	1.70
CS3	0.06	0.00	0.63	0.01	0.00	1.30	0.10	0.00	0.58	0.02	0.00	0.18
CS4	0.06	0.00	0.60	0.01	0.00	1.70	0.10	0.00	1.11	0.03	0.00	0.85
CS5	0.06	0.00	2.54	0.01	0.00	1.26	0.10	0.00	0.95	0.04	0.00	1.54
CS6	0.05	0.00	1.39	0.01	0.00	0.55	0.09	0.00	2.70	0.02	0.00	0.55
CS7	0.06	0.00	0.73	0.01	0.00	2.03	0.04	0.00	2.17	0.03	0.00	2.03
CS8	0.07	0.00	1.37	0.01	0.00	1.29	0.11	0.00	1.50	0.06	0.00	1.86
CS9	0.07	0.00	0.77	0.02	0.00	1.35	0.13	0.00	1.83	0.09	0.00	2.33
CS10	0.06	0.00	0.88	0.01	0.00	0.27	0.06	0.00	1.11	0.03	0.00	1.00
CS11	0.08	0.00	0.57	0.02	0.00	1.02	0.17	0.00	0.69	0.13	0.00	0.57
CS12	0.09	0.00	0.94	0.02	0.00	0.58	0.18	0.00	1.13	0.13	0.00	1.95
CS13	0.10	0.00	0.17	0.02	0.00	0.89	0.23	0.00	0.05	0.17	0.00	1.37
CS14	0.06	0.00	0.23	0.01	0.00	0.92	0.08	0.00	0.45	0.05	0.00	0.83
CS15	0.09	0.00	0.89	0.02	0.00	0.56	0.18	0.00	0.46	0.14	0.00	0.48
CS16	0.12	0.00	0.36	0.03	0.00	0.40	0.33	0.00	0.29	0.21	0.00	0.67
CS17	0.12	0.00	0.28	0.03	0.00	0.17	0.33	0.00	0.61	0.22	0.00	0.33
CS18	0.08	0.00	0.85	0.02	0.00	1.60	0.17	0.00	1.50	0.12	0.00	1.41
CS19	0.13	0.00	0.85	0.03	0.00	1.61	0.35	0.01	1.51	0.21	0.00	1.20
CS20	0.14	0.00	0.77	0.03	0.00	0.63	0.42	0.00	0.48	0.24	0.00	1.76
CS21	0.09	0.00	0.99	0.03	0.00	1.65	0.36	0.01	1.80	0.20	0.00	1.03

CS1, Non-processed; CS2, 160°C-5 min; CS3, 160°C-10 min; CS4, 160°C-15 min; CS5, 160°C-20 min; CS6, 180°C-5 min; CS7, 180°C-10 min; CS8, 180°C-15 min; CS9, 180°C-20 min; CS10, 200°C-5 min; CS11, 200°C-10 min; CS12, 200°C-15 min; CS13, 200°C-20 min; CS14, 220°C-5 min; CS15, 220°C-10 min; CS16, 220°C-15 min; CS17, 220°C-20 min; CS18, 240°C-5 min; CS19, 240°C-10 min; CS20, 240°C-15 min; CS21, 240°C-20 min.

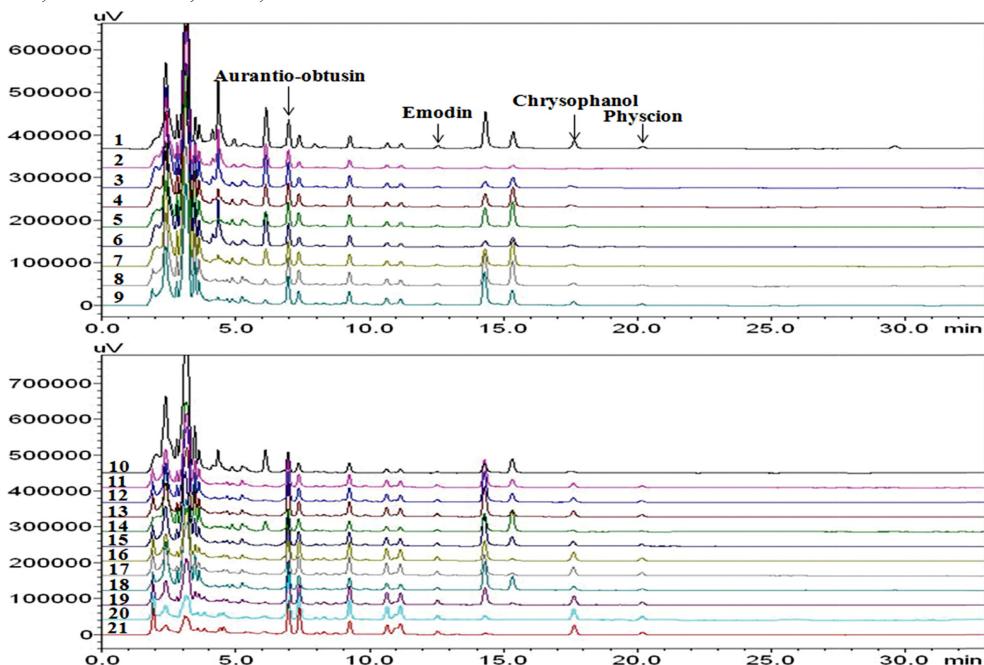


Fig. 4. HPLC profiles of Cassiae Semen and its processed products at wavelength 285 nm. CS1(1), CS2(2), CS3(3), CS4(4), CS5(5), CS6(6), CS7(7), CS8(8), CS9(9), CS10(10), CS11(11), CS12(12), CS13(13), CS14(14), CS15(15), CS16(16), CS17(17), CS18(18), CS19(19), CS20(20), and CS21(21).

었다. Physcion의 경우 포제 전 함량은 0.10%로 검출되었으나 CS20(240°C, 15분)에서 최고치인 0.24%를 비롯하여 CS17(220°C, 20분), CS16(220, 15분), CS19(240°C, 10분) 및 CS21(240°C, 20분)에서 0.22%, 0.21%, 0.21% 및 0.20%로 각각 검출되었다(Table VI).

결 론

본 연구에서는 대한약전에 수록되어 있는 결명자를 시간(5, 10, 15 및 20분)과 온도(160, 180, 200, 220 및 240°C)에 따라 포제 할 경우 결명자의 주요 성분 중 항당뇨합병증에 효과가 있는 aurantio-obtusin과 emodin, 항바이러스 효능을 가진 chrysophanol 및 항암 활성을 가진 physcion 등²⁶⁻²⁸⁾ 4 가지 성분에 대하여 포제 전·후의 함량변화를 측정하고자 하였다. Aurantio-obtusin, emodin, chrysophanol 및 physcion의 4가지 성분 모두를 고려하였을 때 이화학적으로 가장 많은 함량을 보인 포제 시간과 온도는 CS20(240°C, 15분)에서 4가지 성분 모두 최고치인 0.14%, 0.03%, 0.42% 및 0.24%로 검출되었다. 그 외 CS16(220°C, 15분), CS17(220°C, 20분), CS19(240°C, 10분) 및 CS21(240°C, 20분)에서 다른 포제 방법에 비하여 비교적 높은 함량 결과를 얻었다.

사 사

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

인용문헌

- Kim, J. S., Kim, H. J., Ma, J. Y. and Kim, J. M. (2002) Studies on the processing of herbal medicines (II) - HPLC analysis of standard compounds of unprocessed- and processed herbal medicines - *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 305-307.
- 康秉秀, 徐富一, 崔湖榮 (2003) 韓藥 炮製와 臨床應用, 46-69. 영림사, 서울.
- 생약학교재편찬위원회 (2012) 생약학, 304-306. 동명사, 서울.
- 한방약리학교재편찬위원회 (2010) 한방약리학, 419-422. 신일북스, 서울.
- Ju, H. K., Hwang, B. Y., Kang, S. J., Chang, S. Y., Won, D. H., Ro, J. S. and Lee, K. S. (2001) Isolation and quantitative analysis of aurantio-obtusin from Cassiae Semen. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 157-162.
- Fu, F., Tian, F., Zhou, H., Lv, W., Tie, R., Ji, L., Li, R., Shi, Z., Yu, L., Liang, X., Xing, W., Xing, J., Yu, J., Sun, L., Zhu, H. and Zhang, H. (2014) Semen Cassiae attenuates myocardial ischemia and reperfusion injury in high-fat diet streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Am. J. Chin. Med.* **42**: 95-108.
- Kim, Y. S., Jung, D. H., Sohn, E., Lee, Y. M., Kim, C. S. and Kim, J. S. (2014) Extract of Cassiae semen attenuates diabetic nephropathy via inhibition of advanced glycation end products accumulation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* **21**: 734-739.
- Ju, M. S., Kim, H. G., Choi, J. G., Ryu, J. H., Hur, J., Kim, Y. J. and Oh, M. S. (2010) Cassiae Semen, a seed of Cassia obtusifolia, has neuroprotective effects in Parkinson's disease models. *Food Chem. Toxicol.* **48**: 2037-2044.
- Caceres, A., Lopez, B. R., Giron, M. A. and Logemann, H. (1991) Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *J. Ethnopharmacol.* **31**: 263-276.
- Hong, K. H., Um, M. Y., Ahn, J. and Ha, T. Y. (2012) Effect of *Cassia tora* extracts on D-galactosamine-induced liver injury in rats. *Korean J. Food Nutr.* **25**: 546-553.
- Ha, T. Y., Cho, I. J. and Lee, H. Y. (2001) Effect of *Cassia tora* ethanol extracts on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**: 789-794.
- Ahn, B. Y. (2009) Desmutagenic effect of water extract from *Cassia tora* L. on the mutagenicity of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine in *E. coli* PQ37. *J. Fd. Hyg. Safety* **24**: 46-49.
- Na, G. M., Han, H. S., Ye, S. H. and Kim, H. K. (2004) Extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia tora* L. extracts. *Korean J. Food Culture* **19**: 499-505.
- Yun-Choi, H. S., Kim, J. H. and Takido, M. (1990) Potential inhibitors of platelet aggregation from plant sources, V. Anthraquinones from seeds of *Cassia obtusifolia* and related compounds. *J. Nat. Prod.* **53**: 30-633.
- Bin-Hafeez, B., Ahmad, I., Haque, R. and Raisuddin, S. (2001) Protective effect of *Cassia occidentalis* L. on chclophosphamide-induced suppression of humoral immunity in mice. *J. Ethnopharmacol.* **75**: 13-18.
- 동의학연구소 (1994) 한약제법, 69. 여강출판사, 서울.
- Lee, M. H., Cho, J. H. and Kim, B. K. (2013) Effect of roasting conditions on the antioxidant activities of *Cassia tora* L.. *Korean J. Food Sci. Technol.* **45**: 657-660.
- Joo, H. K., Yun, J. B., Kim, K. G., Sa, T. M. and Lee, Y. T. (1997) Effects of roasted *Cassia tora* L. extracts on the chemical changes and microbial growth. *Agric. Chem. Biotechnol.* **40**: 472-477.
- Kim, J. K., Hawer, W. D., Ha, J. H., Moon, K. D. and Chung, S. K. (1995) Changes of volatile flavor components on roasting conditions in *Cassia tora* seeds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**: 736-741.
- 전국한의과대학 공동교재편찬위원회 편저 (2004) 본초학, 553. 영림사, 서울.
- 한국약학대학협의회 약전분과회 (2008) 제9개정 대한약전 해설서 II, 1101. 신일북스, 서울.

22. 한국약학대학협의회 약전분과회 (2008) 제9개정 대한약전 해설서 I, 103-105. 신일북스, 서울.
23. 식품의약품안전청. 식품의약품안전청 고시 제2011-42호. 2011.
24. Zhang, W. D., Wang, Y., Wang, Q., Yang, W. J., Gu, Y., Wang, R., Song, S. M. and Wang, X. J. (2012) Quality evaluation of Semen Cassiae (*Cassia obtusifolia* L.) by using ultra-high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* **35**: 2054-2062.
25. Xu, L., Chan, C. O., Lau, C. C., Yu, Z., Mok, D. K. and Chen, S. (2012) Simultaneous determination of eight anthraquinones in Semen Cassiae by HPLC-DAD. *Phytochem. Anal.* **23**: 110-116.
26. Jang, D. S., Lee, G. Y., Kim, Y. S., Lee, Y. M., Kim, C. S., Yoo, J. L. and Kim, J. S. (2007) Anthraquinones from the seeds of *Cassia tora* with inhibitory activity on protein glycation and aldose reductase. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 2207-2210.
27. Li, S. W., Yang, T. C., Lai, C. C., Huang, S. H., Liao, J. M., Wan, L., Lin, Y. J. and Lin, C. W. (2014) Antiviral activity of aloe-emodin against influenza A virus via galectin-3 up-regulation. *Eur. J. Pharmacol.* **738**: 125-132.
28. Wijesekara, I., Zhang, C., Van Ta, Q., Vo, T. S., Li, Y. X. and Kim, S. K. (2014) Physcion from marine-derived fungus *Microsporum* sp. induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells. *Microbiol. Res.* **169**: 255-261.

(2014. 6. 20 접수; 2014. 7. 26 심사; 2014. 8. 20 게재확정)