

감국의 품질 평가

배기환*, 김영호, 민병선, 정현주, 하티탄황, 이준성, 지형준¹

충남대학교 약학대학, ¹서울대학교 천연물과학연구소

The Quality Evaluation of Chrysanthemi Flos

KiHwan Bae*, YoungHo Kim, ByungSun Min, HyunJu Jung,
Ha Thi Thanh Huong, JunSung Lee and HyungJoon Chi¹

College of Pharmacy, Chungnam National Univ., Taejon 305-764, Korea;

¹Natural Products Research Institute, Seoul National Univ., Seoul 110-460, Korea

Abstract—The flower of *Chrysanthemum morifolium* L. has been used as “Kamguk” in the Korean markets instead of it from *C. indicum* L. In order to evaluate the quality of Chrysanthemi Flos, the method for isolation and quantitative determination of luteolin as standard compound has been developed. It is analyzed with HPLC using the solvent system of MeOH-water-acetic acid (30 : 70 : 5). The amounts of luteolin from Chrysanthemi Flos in Korean markets are in the range of 0.03~0.04%. The amounts of luteolin from the flowers of *C. indicum* and *C. boreale* are approximately 0.14% and 0.04%, respectively.

Key words—*Chrysanthemum morifolium*; *C. indicum*; *C. boreale*; Compositae; Chrysanthemi Flos; luteolin; HPLC; Quantitative analysis.

감국(甘菊)은 疏散風熱, 平肝明目, 清熱解毒의 효능이 있으며, 風熱感冒, 發熱頭痛, 目赤昏花, 眩暈驚風, 瘡腫毒을 치료하는 辛涼解表藥의 하나이다.¹⁾ 우리나라의 생약 요람에는 감국의 기원식물로 감국(*Chrysanthemum indicum* L.) 및 근연식물로 기재되어 있다.²⁾ 한편, 중국 약전에는 국화(菊花)와 야국(野菊)이 별개의 생약으로 규정되어 있으며, 菊花의 기원식물로는 *Chrysanthemum morifolium* L.을, 野菊의 기원식물로는 *C. indicum*을 들고 있다.³⁾ 감국의 품질평가를 위해 서울, 부산, 대전, 경북 군위에서 유통되고 있는 감국을 구입 조사해 본 결과, 꽃의 크기, 색깔, 냄새 등으로 보아 감국(*C. indicum*)의 꽃이 아니고 중국에서 수입되고 있는 국화(*C. morifolium*)의 꽃 또는 이것의 근연종이

었다. 따라서 감국의 품질규격화를 위하여 주성분을 분리하고, 이것을 표준물질로 하여 HPLC에 의하여 품질 평가법을 확립, 보고한다.

감국의 주성분으로는 플라보노이드 화합물인 luteolin, apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucoside, luteolin 7-O- β -D-glucoside, sesquiterpene lactone 화합물인 cumambrin A, cumambrin B, arteglinin A, angeloyljadin이 함유되어 있다. 산국의 성분으로는 sesquiterpene lactone 화합물인 cumambrin A, cumambrin B, arteglinin A, angeloyljadin 등이 보고되어 있다. 이들 성분 가운데, 함량이 많으며 antispasmodic, anti-inflammatory,⁴⁾ antitumor activity⁵⁾와 aldose reductase의 억제작용⁶⁾ 등이 보고되어 있는 luteolin을 표준품으로 사용하여 HPLC로 정량하였다. 아울러 감국과 산국에도 이 성분이 어느정

*교신저자 : Fax 042-823-6566

도 함유되어 있는지 비교 검토하여 보고한다.

실험 방법

실험재료-현재 한약 도매상이나 한의원, 또는 한약방에서 유통되고 있는 것은 중국에서 수입되고 있는 것으로 국화 또는 이것의 근연종의 꽃을 채취하여 말린 것으로서 지름이 4~5 cm이고, 황색을 띤다(Fig. 1A). 감국으로 시판되는 시료들(A~D)은 종로한약방(서울, 1997년 10월 1일), 성원한의원(부산, 1997년 10월 10일), 회춘당한약방(대전, 1997년 10월 15일), 대보제약(경북 군위, 1997년 10월 27일)에서 구입하였고, 비교재료로 감국(*C. indicum*, Fig. 1B)은 1997년 11월 5일 경남 진주에서 채집하였고, 산국(*C. boreale*, Fig. 1C)은 1997년 10월 25일 강원도 화천에서 채집하였다.

시약 및 기기-용점은 Electrothermal 9100 (England), NMR은 Bruker DRX-300(300 MHz, Germany), HPLC는 Shimadzu사의 pump: LC-10AD, detector: CBM-10A를 사용하였다.

표준품의 분리 및 동정-감국 재료 200 g을 메탄올 2리터로 실온에서 24시간 냉침하여 추출하고, 추출액을 여과하고 여액을 감압하에서 농축하여 암갈색의 메탄올엑스(60 g)를 얻었다. 메탄올 엑스는 물에 현탁하여 에틸아세테이트로 용매 분획하여 에틸아세테이트 분획물을 얻었다. 에틸아세테이트 분획물을 실리카겔 컬럼으로 디클로로메탄-메탄올(10:1→5:1)로 용출하여 fr. 1, 2, 3를 얻었다. fr. 3를 다시 실리카겔(300 g) 컬럼으로 벤젠-에틸아세테이

트(20:1→10:1)로 용출하여 luteolin이 많이 함유된 분획물을 얻었다. 이것을 다시 실리카겔 컬럼, 벤젠-에틸아세테이트(20:1) 용매로 분획하여, 미황색의 luteolin(Fig. 2)을 얻었으며, 표준품과 TLC, HPLC, m.p. ¹H NMR data 등으로 비교하여 확인하였다.

m.p.(uncorrected) 269~271°C, ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 6.15(1H, d, J=2.0 Hz, H-6), 6.44(1H, d, J=2.0 Hz, H-8), 6.60(1H, s, H-3), 6.86(1H, d, J=8.1 Hz, H-5'), 7.37(1H, dd, J=2.2, 8.1 Hz, H-6'), 7.39(1H, d, J=2.2, H-2'), 8.44(br.s, 3×OH).

정량용 검체 제조-검체 약 2 g을 정밀하게 달아 MeOH 10 ml를 넣고 환류 냉각기가 부착된 수욕상에서 2시간씩 3회 추출하였다. 여액을 감압하여 농축하고, 증류수에 현탁하고 에틸아세테이트로 3회 분획하여 에틸아세테이트 분획물을 얻었다. 에틸아세테이트 층을 감압농축하고, HPLC용 MeOH에 용해시켜 0.45 μm membrane filter를 여과한 액을 정확히 20 ml로 한후 HPLC로 분석하기 위한 검체로 사용하였다.

HPLC 분석조건-이동상: MeOH-H₂O-AcOH=30:70:5, column: Waters, Nova-Pak C18(3.9×150 mm), detector: UV 365 nm, flow rate: 1.0 ml/min, injection volume: 10 μl를 분석조건으로 하였다.

luteolin의 검량선-luteolin 5 mg을 HPLC용 MeOH에 녹이고 이것을 stock solution으로 하여 10 μg/ml, 50 μg/ml, 100 μg/ml, 200 μg/ml의 검

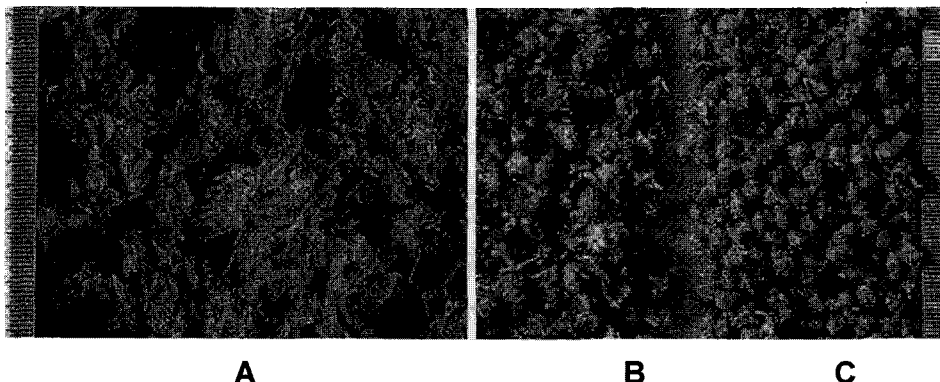


Fig. 1. Picture of Chrysanthemi Flos. A: *C. morifolium*, B: *C. indicum* and C: *C. boreale*.

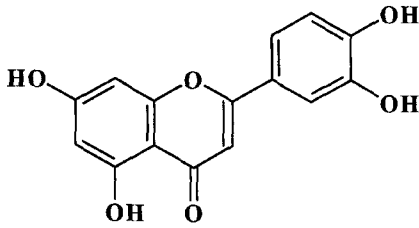


Fig. 2. Structure of luteolin.

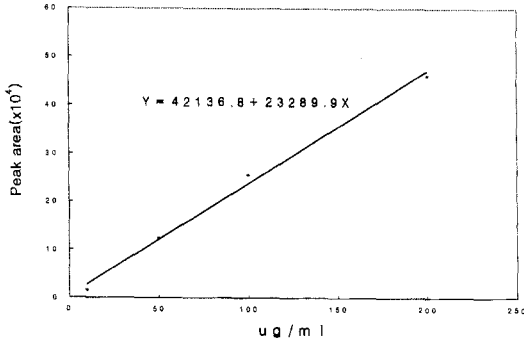


Fig. 3. The calibration curve of luteolin with HPLC (n=3).

액을 만들어 검량선용 표준용액으로 하였고, 상기의 HPLC 조건으로 검량선을 작성하였다.

에틸엑스 함량- 분석용 검체를 데시케이타(실리카 겔)에서 48시간 건조하고 그 약 2g을 정밀하게 달아 적당한 플라스크에 넣어 에틸 70 ml를 넣고 환류냉각기를 달아 수욕상에서 4시간 조용히 끓여 방냉한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml가 될 때까지 에틸로 씻었고, 여액 50 ml를 수욕상에서 증발 건조하고 데시케이타(실리카 겔)에서 24시간 건조한 다음 그 무게를 정밀하게 달고 2를 곱하여 에틸 엑스의 양으로 하고 엑스함량(%)을 산출하였다.

회분함량- 미리 백금제 도가니를 500~550℃에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 분석용 검체 약 2g을 취하여 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달고 처음에는 약하게 가열하고 온도를 천천히 올려 500~550°에서 4시간 이상 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하여

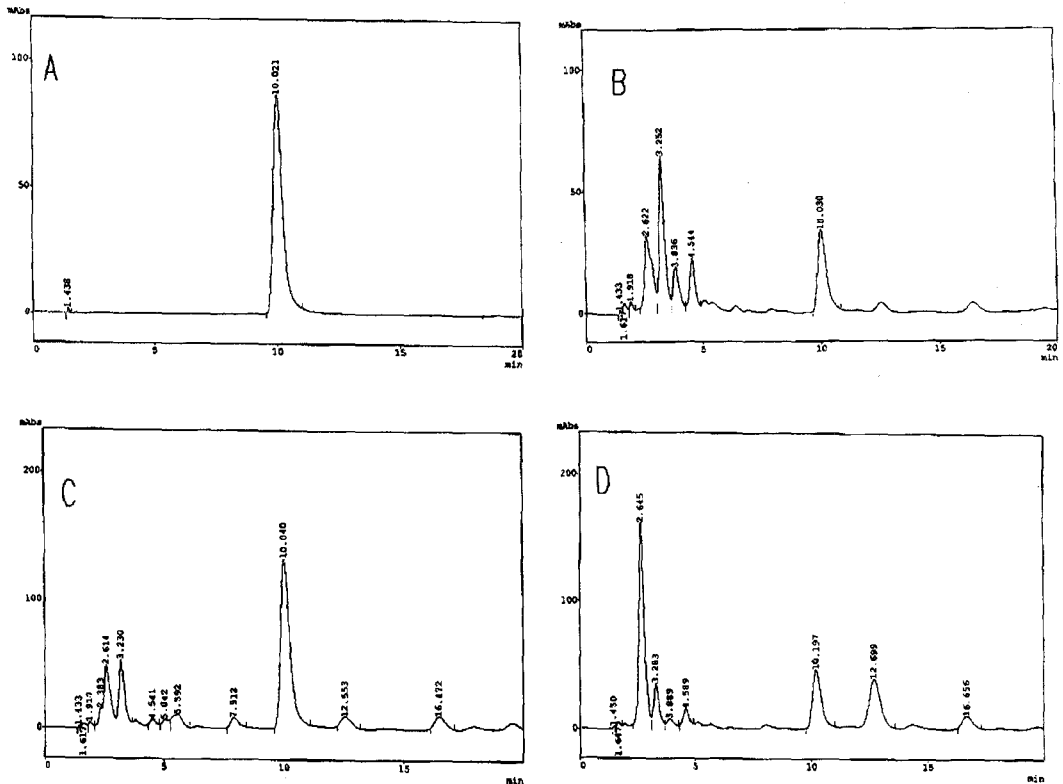


Fig. 4. HPLC chromatograms of luteolin isolated from Chrysanthemi Flos. A: luteolin, B: *C. morifolium*, C: *C. indicum* and C: *C. boreale*.

방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달아 회분량(%)으로 하였다.

산불용물함량 - 회분에 묽은염산 25 ml를 넣고 5분간 끓여 불용물을 정량용 여과지를 써서 여과하여 취하고 열탕으로 잘 씻어 잔류물을 여과지와 함께 건조한 다음 회분의 항과 같은 조작으로 무게를 미리 단 백금제 도가니에서 3시간 강열하여 데시케이터(실리카겔)에서 방냉하여 그 무게를 달아 산불용성 회분량으로 하였다. 이렇게 하여 얻은 값이 규정 값보다 클 경우에는 항량이 될 때까지 강열하였다.

결과 및 고찰

Luteolin의 분리 및 동정 - 에틸아세테이트 분획물을 실리카겔 컬럼으로 분리한 미황색의 물질을 얻고, 메탄올로 용매 재결정하여 순품을 얻었다. 이 물질은 luteolin 표준품들과 TLC의 Rf치, HPLC의 retention time 및 mp가 동일하였고, 신 등⁶⁾이 보

Table I. The amount of luteolin in Chrysanthemi Flos by HPLC

| Samples | 1st (%) | 2st (%) | 3st (%) | Average (%) |
|----------------|---------|---------|---------|-------------|
| A ^a | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| B ^a | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| C ^a | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 |
| D ^a | 0.03 | 0.04 | 0.03 | 0.03 |
| E ^b | 0.14 | 0.14 | 0.13 | 0.14 |
| F ^c | 0.04 | 0.04 | 0.04 | 0.04 |

^aA,B,C,D: *C. morifolium* from Seoul, Pusan, Taejon and Kunwhy, respectively.

^bE: *C. indicum*.

^cF: *C. boreale*.

Table II. The amount of ether extract from Chrysanthemi Flos

| Samples | 1 (%) | 2 (%) | 3 (%) | Average (%) |
|----------------|-------|-------|-------|-------------|
| A ^a | 9.02 | 7.80 | 7.32 | 8.10 |
| B ^a | 5.76 | 6.26 | 5.92 | 5.98 |
| C ^a | 5.92 | 6.32 | 5.21 | 5.82 |
| D ^a | 6.68 | 6.59 | 5.88 | 6.38 |
| E ^b | 9.92 | 9.32 | 8.02 | 9.12 |
| F ^c | 8.02 | 7.31 | 6.48 | 7.31 |

^aA,B,C,D: *C. morifolium* from Seoul, Pusan, Taejon and Kunwhy, respectively.

^bE: *C. indicum*.

^cF: *C. boreale*.

고한 luteolin의 ¹H-NMR data와 일치하였다.

Luteolin의 검량선 작성 - 표준물질인 luteolin을 사용하여 검량선을 작성한 결과, 10~200 µg/ml에서 $y = 42136.8 + 23289.9x$ ($r = 0.991$)로 직선성을 나타냈다(Fig. 3).

감국류 생약에 함유된 luteolin의 정량 - 검량선을 이용하여, 각지방에서 구입한 감국, 채집한 감국과 산국의 꽃으로부터 luteolin의 함량을 HPLC로 정량한 결과(Table I), 서울에서 구입한 감국은 0.03%, 부산에서 구입한 감국은 0.03%, 대전에서 구입한 감국은 0.04%, 군위에서 구입한 감국은 0.03%를 각각 함유하고 있었다. 한편, 비교시험을 위해 채집한 감국은 0.14%이었고, 산국은 0.04%이었다. 그러므로 luteolin의 함량은 국내에 자생하는 감국에 많았고, 생약시장에 유통되는 감국과 산국의 함량은 비슷하게 나타났다.

에텔엑스, 회분, 산불용물의 함량 - 에텔엑스의 함량은 Table II와 같다. 즉, 중국에서 수입되어 유통되고 있는 감국의 에텔엑스의 함량은 5.82~8.10%이었고, 국내에서 채집한 감국은 9.12%, 산국은 7.31%로서 큰 차이를 볼 수 없었다. 그리고 생약규

Table III. Ash amounts of each sample

| Samples | 1st (%) | 2st (%) | 3st (%) | Average (%) |
|----------------|---------|---------|---------|-------------|
| A ^a | 6.24 | 6.03 | 6.41 | 6.23 |
| B ^a | 5.17 | 4.88 | 5.17 | 5.07 |
| E ^b | 5.83 | 5.92 | 6.12 | 5.96 |
| F ^c | 5.41 | 5.55 | 5.45 | 5.47 |

^aA,B: *C. morifolium* from Seoul B: Pusan, respectively.

^bE: *C. indicum*.

^cF: *C. boreale*.

Table IV. Acid-insoluble ash amounts of each sample

| Samples | 1st (%) | 2st (%) | 3st (%) | Average (%) |
|----------------|---------|---------|---------|-------------|
| A ^a | 1.93 | 1.79 | 2.20 | 1.97 |
| B ^a | 1.28 | 0.95 | 1.21 | 1.15 |
| E ^b | 1.74 | 2.01 | 1.93 | 1.89 |
| F ^c | 0.96 | 1.05 | 0.86 | 0.96 |

^aA,B: *C. morifolium* from Seoul and Pusan, respectively.

^bE: *C. indicum*.

^cF: *C. boreale*.

격집²⁾에는 17% 이상으로 규정하고 있는데, 이 수치에는 크게 못미치는 함량이었다. 회분의 함량은 Table III과 같으며, 서울과 부산에서 유통되는 감국은 각각 6.23, 5.07%, 국내에서 자생하는 감국과 산국은 각각 5.96, 5.47%로서 거의 비슷하였다. 생약 규격집에는 10% 이하로 규정하고 있으므로 모든 시료는 이 범위에 들어 있었다. 산불용성회분의 함량 (Table IV)에 있어서, 서울과 부산에서 유통되고 있는 감국은 각각 1.15, 1.97%, 국내에서 자생하는 감국과 산국은 각각 1.89, 0.96%이었고, 생약규격집²⁾에는 산불용물을 5% 이하로 규정하고 있는 데, 모든 시료는 이 범위내에 있었다.

결 론

1. 국내에 유통되고 있는 감국은 외부형태 및 HPLC pattern으로 보아, 중국산 국화(*Chrysanthemum morifolium* L.)의 꽃 또는 이것의 근연종이었다.

2. 감국의 규격화 방법을 luteolin을 표준품으로 하여 HPLC에 의하여 확립하였다. 유통되고 있는 감국인 국화(*Chrysanthemum morifolium*)의 꽃 또는 이것의 근연종에는 luteolin의 함량이 0.03~0.04%, 감국(*C. indicum*)의 꽃에는 0.14%, 산국(*C. boreale*)의 꽃에는 0.04% 함유되어 있었다.

3. 에텔엑스는 국내에 유통되고 있는 감국인 국화(*C. morifolium*)의 꽃 또는 이것의 근연종에는 5.82~8.10%, 감국(*C. indicum*)의 꽃에는 9.12%, 산국(*C. boreale*)의 꽃에는 7.31%로 큰 차이는 없었다. 회분의 양은 서울과 부산에서 유통되는 감국은 5.07~6.23%, 국내에서 자생하는 감국과 산국은 각각 5.96, 5.47%로서 거의 비슷하였다. 산불용성회분은 서울과 부산에서 유통되고 있는 감국은 1.15

~1.97%, 국내에서 자생하는 감국과 산국은 각각 1.89, 0.96%이었다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 생약: 한약재 품질표준화 사업(보건복지부)에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드린다. 그리고 귀중한 표준품을 제공하여 주신 생명공학연구소 이형규박사님, 한국화학연구소 류시용박사님, 인삼연초연구소 이유희박사님, 감국의 자료를 보내주신 경성대학교 농대 양민석교수님과 장대식박사께 감사드린다.

인용문헌

1. 정보섭, 신민교 (1989) 향약대사전, 1038-1039, 영림사, 서울.
2. 한국생약학회 편저 (1980), 생약요람, 227. 녹지사, 서울.
3. 중화인민공화국 위생부 약전위원회 편 (1995), 중화인민공화국약전, 269, 278. 광동과기출판사, 화학공복출판사, 광주시.
4. Simoes, C. M., Schenkel, E. P., Bauer, L. and Langeloh, A. (1988) Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides*, *J. Ethnopharmacol.*, 22: 281-293.
5. Ryu, S. Y., Choi, S. U., Lee, C. O., Lee, S. H., Ahn, J. W. and Zee, O. P. (1994) Antitumor activity of some phenolic components in plants, *Arch. Pharm., Res.*, 17: 42-44.
6. Shin, K. H., Kang, S. S., Seo, E. A. and Shin, S. W. (1995) Isolation of aldose reductase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum boreale*, *Arch. Pharm. Res.*, 18: 65-68.

(1999년 1월 6일 접수)