

산초의 품질 평가

이현용 · 안인파 · 나민균 · 박진영 · 이경순¹ · 김영호 · 배기환*

충남대학교 약학대학, ¹충북대학교 약학대학

Quality Evaluation of Zanthoxyli Fructus

HyunYong Lee, RenBo An, MinKyun Na, JinYoung Park, Kyong Soon Lee,¹

Young Ho Kim and KiHwan Bae*

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764,

¹College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract – Zanthoxyli Fructus has been used in traditional medicine for the treatment of analgesic, gastric disorder, rheumatism etc. In order to evaluate the quality of Zanthoxyli Fructus, the method of isolation and quantitative determination of xanthoxylin as a standard compound has been developed. The HPLC method, using the mobile phase of acetonitrile-water (4:6), showed that the amount of xanthoxylin were in the range of 0.01 to 2.67%.

Key words – Zanthoxyli Fructus, quantitative determination, xanthoxylin, HPLC

산초(山椒)는 온중(溫中), 제한(除寒), 제습(除濕), 지통(止痛), 소화불량(消化不良) 등에 사용하는 온리약(溫裏藥)의 하나이다.¹⁾ 산초의 성분으로는 α -sanshool, γ -sanshool, hydroxy- γ -sanshool, hydroxy- α -sanshool, hydroxy- β -sanshool, xanthoxylin, mikanin, hyperin, isovanillic acid, quercetin 등이 보고되어 있다.^{2,3)} 산초는 신농본초경(神農本草經)의 하품(下品)에 촉초(蜀椒), 중품(中品)에는 진초(秦椒)라는 이름으로 수재되어 있다.⁴⁾ 모두 *Zanthoxylum* 속 식물의 과실로서 이시진(李時珍)선생은 진초(秦椒)는 화초(花椒)를 가리키는 것으로 처음에 진(秦)나라에서 생산되었으므로 붙인 이름이라고 하였다.²⁾ 그러나 현재 중국에서는 진초(秦椒)라고 하는 것은 청초(靑椒)이고, 촉초(蜀椒)라고 하는 것은 화초(花椒)를 가리키고 있다. 화초(花椒)는 본초강목(本草綱目)에 처음으로 수재되어 있다.⁴⁾ 대한약전(제7개정판)에는 산초의 기원식물로 운향과(Rutaceae)에 속하는 초피나무 *Zanthoxylum piperitum* DC. 또는 기타 동속식물의 과피로서 씨를 났을 수 있는 대로 제거한 것으로 규정하고 있다.⁵⁾ 중국에는 *Zanthoxylum* 속 식물이 45종 13변종 2품종으로 분류되어 있고,⁶⁾ 실제로 시장에 출하되고 있는 것들은 수종의 과실이 혼용되어 사용되고 있다. 중국인민공화국약전에

는 화초(花椒)라는 이름으로 수재되어 있으며, 청초(靑椒) *Z. schinifolium* S. et Z.와 *Z. bungeanum* Maxim.의 성숙과피로 규정하고 있다.⁷⁾ 서울의 경동시장을 비롯하여 대구, 부산, 금산, 대전 등 생약시장에 출하되는 산초(山椒)는 거의 중국에서 수입되고 있으며 천초(川椒)라는 이름으로 거래되고 있다. 천초(川椒)는 열매가 붉고 크지만, 간혹 출하되는 국산의 산초(山椒)는 열매가 회흑색이며 작다. 이와 같이 산초류 생약의 기원은 *Zanthoxylum* 속의 여러 종에서 유래하므로 성분 및 약효학적 품질이 균일하지 못할 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 산초의 주요성분이며 항진균활성,⁸⁾ 혈소판 응집억제활성⁹⁾ 등 여러 가지 약리활성이 있는 xanthoxylin을 지표성분으로 하여 HPLC에 의한 품질평가법을 확립하였으며, 이를 이용하여 국내에서 유통되고 있는 산초의 성분을 비교·분석하였다.

재료 및 방법

재료 – 본 연구에 사용한 산초는 2000년 5월 국내(서울, 경기도 평택, 경기도 분당, 강원도 원주, 강원도 춘천, 대전, 충북 영동, 충남 논산, 충남 금산, 전북 군산, 대구, 광주, 울산, 경북 안동, 부산, 경북 영주, 전남 순천, 제주)에서 유통되는 것과 2000년 9월 충남대학교 약초원에서 채집하여 음

*교신저자(E-mail) : baekh@cnu.ac.kr

건한 것을 마쇄한 후 시료로 사용하였다.

기기 - 용점은 Electrothermal 9100 (England)을, IR은 JASCO Report-100을, MS는 JMS-HX110 (Japan)을, NMR은 Bruker DRX-300 (300 MHz, Germany)을 사용하여 측정하였고, 회화로는 Electronic Murffle Furnace SEF-301 (Korea)을, HPLC는 Shimadzu (LC-10AD pump; CTO-10A oven, SPD-10AV UV detector, Japan)의 것을, column은 Waters Nova-Pak C₁₈ (3.9×150 mm)을 사용하였다.

지표성분의 분리 - 산초 1 kg을 40°C에서 MeOH로 3회 반복하여 추출하여 MeOH 엑스 190 g을 얻었다. MeOH 엑스를 물로 현탁시킨 후 ether로 3회 추출하고 농축하여 ether 엑스 70 g을 얻었다. ether 엑스를 MeOH 150 ml에 녹여 MeOH 용액을 만들고 hexane으로 추출, hexane 가용분획을 농축하여 결정성 물질을 얻었다. 이것을 MeOH로 재결정하여 무색의 침상결정을 얻었다.

Xanthoxylin - mp 81-83°C, UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 214 (2.80), 219 (2.67), 286 (2.96), 287 (3.40) nm, ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3400 (OH), 1660 (C=O), 1600, 1500, 1430 (aromatic C=C), EI-MS (70 eV) m/z : 196 [M⁺]. ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ : 2.56 (3H, s, COCH₃), 3.81, 3.87 (each 3H, s, OCH₃×2), 4.86 (1H, s, OH), 6.03 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-5), 6.04 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3), ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ : 33.06 (COCH₃), 56.07 (OCH₃), 56.16 (OCH₃), 91.58 (C-3), 94.59 (C-5), 106.85 (C-1), 164.63 (C-2), 167.93 (C-6), 168.34 (C-4), 204.54 (C=O).

검액의 조제 - 건조한 산초 2.0 g을 MeOH 20 ml로 2시간 환류추출하였다. 여과한 후 잔사를 20 ml MeOH로 세척하고, 추출액과 세척액을 합하여 감압 농축한 후 HPLC용 MeOH 20 ml로 녹여 0.45 μm membrane filter로 여과한 것을 검액으로 하였다.

표준검량선의 작성 - xanthoxylin을 MeOH에 녹여 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 표준용액을 조제하였다. 각 표준용액 5 μl 를 취하여 HPLC를 실시하였고, peak 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성한 결과 25~400 $\mu\text{g/ml}$ 에서 $y=27367x+431058$ ($r=0.9942$)의 직선성을 나타내었다(Fig. 1).

HPLC 분석조건 - HPLC를 이용한 분석조건은 다음과 같다. Column은 Nova-Pak C₁₈ (3.9×150 mm, Waters)을, 검출기는 자외부흡광광도계 (측정파장 290 nm)를 사용하였으며, 이동상으로는 acetonitrile-H₂O (40:60), 온도는 40°C, 유속은 1.0 ml/min, 주입량은 5 μl 로 하여 분석하였다.

Xanthoxylin의 함량 - 각 검액 5 μl 씩을 정확히 취하여 위의 분석조건으로 표준물질과 시장에서 구입한 시료에 대해 HPLC를 실시하였다. 각 검액에서 얻어진 피크면적을 검

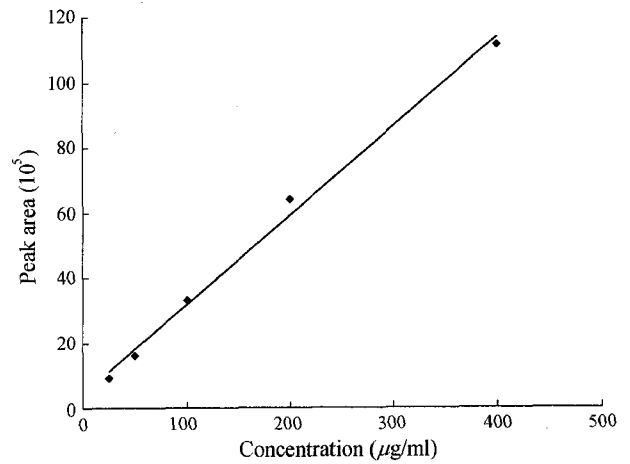


Fig. 1. Calibration curve of xanthoxylin.

량선에 대입하여 각 시료들에 함유된 xanthoxylin의 함량을 구하였다.

회분시험 - 미리 백금제 도가니를 500~550°C에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 분석용 검체 약 2 g을 취하여 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달아 500~550°C에서 4시간 이상 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하고 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달아 회분량(%)으로 하였다.

산불용성회분시험 - 회분에 붉은 염산 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 데시케이터에서 방냉하고 그 무게를 달아 산불용성회분량으로 하였다. 이렇게 하여 얻은 값이 규정 값보다 클 경우에는 함량이 될 때까지 강열하였다.

결과 및 고찰

산초의 주요성분이며 정량분석의 지표물질로 xanthoxylin을 분리하였다. MeOH 엑스를 물로 현탁시킨 후 ether로 추출하고 농축하여 얻은 ether 엑스를 다시 MeOH에 녹이고 hexane으로 추출하였다. hexane 가용분획을 농축하고 MeOH에 재결정하여 무색의 침상결정을 얻었다. 이 화합물의 mp는 81-83°C였고, UV 214 (2.80), 219 (2.67), 286 (2.96), 287 (3.40) nm에서 극대흡수 파장을 보였다. IR spectrum에서는 3400 cm⁻¹에서 hydroxyl group을, 1660에서 carbonyl group을, 1600, 1500, 1430에서 aromatic double bond를 관찰할 수 있었고, EI-MS spectrum에서는 m/z 196에서 분자이온 peak가 강하게 나타났다. ¹H-NMR spectrum에서는 δ 2.56에 aromatic ring에 결합된 acetyl methyl group이

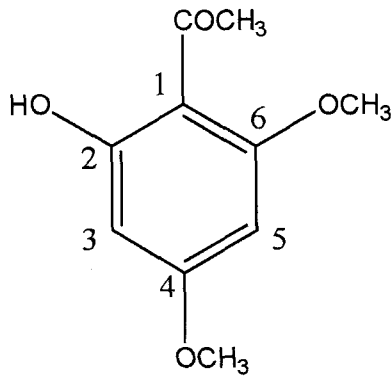


Fig. 2. The structure of xanthoxylin.

singlet로, δ 3.81과 δ 3.87에서 2개의 methoxy group이 각각 singlet로, δ 4.86에 1개의 hydroxyl group이 singlet로, δ 6.03과 δ 6.04에서 2개의 aromatic proton이 관찰되었다. ^{13}C -NMR spectrum에서는 δ 33.06에서 acetyl의 methyl group이, δ 56.07과 δ 56.16에서 2개의 methoxy group이, δ 91.58, δ 94.59, δ 106.85, δ 164.63, δ 167.93, δ 168.34에서 aromatic carbon들이, δ 204.54에서 carbonyl carbon이 나타났다. 이상의 물리화학적 성상 및 ^1H -, ^{13}C -NMR spectral data를 문헌치^{3,10)}와 비교하여 분리된 화합물이 xanthoxylin임을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

이상과 같이 분리 확인된 xanthoxylin을 지표물질로 하여 HPLC를 실시하였다. 분석조건을 검토한 결과, 고정상으로 Nova-Pak C_{18} (3.9×150 mm, Waters)을 사용하고, 이동상으로는 acetonitrile- H_2O (40:60)을 사용하며 유속은 1.0 ml/min, 온도는 40°C일 때 retention time이 9.1분으로 다른 물

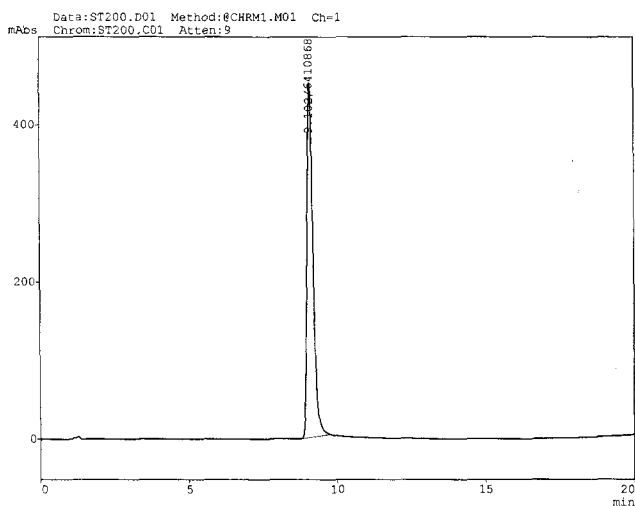


Fig. 3. HPLC chromatogram of xanthoxylin stationary phase: Nova-Pak C_{18} , mobile phase: acetonitrile- H_2O (40:60) flow rate: 1 ml/min, detector: UV 290 nm, oven temperature: 40°C.

질의 peak와 분리되었으므로 이것을 적합한 분석조건으로 선택하였다. 표준용액 5 μl 를 취하여 이 분석조건으로 HPLC를 실시하였고(Fig. 3), peak 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성한 결과 25~400 $\mu\text{g}/\text{m}$ 의 농도범위에서 $y=27367x+431058$ ($r=0.9942$)의 직선성을 나타내었다(Fig. 1). 같은 조건으로 국내에서 유통되는 산초 시료에 대해 HPLC를 실시하였고, 각 시료에서 얻어진 피크면적을 검량선에 대입하여 각 시료들에 함유된 xanthoxylin의 함량을 구하였다(Table I). 그 결과 국내에서 유통되는 산초에 함유된 xanthoxylin의 함량은 0.01-2.67%의 범위에서 나타났으며, 평균함량은 0.90%이었다.

국내에서 유통되는 시료에 대하여 대한약전규정에 적합한지를 평가하기 위하여 회분시험을 실시한 결과 평균 6.11 \pm 0.71%로 대한약전 규정의 6.0% 이하에는 15개의 시료만이 규정에 적합하였고 나머지는 규정 보다 많게 나타났다(Table I). 산불용성회분 시험결과 평균 0.78 \pm 0.30%로 모든 시료가 1.5% 이하로 규정된 대한약전 규정에 적합하였다(Table I).

Table I. Amount of xanthoxylin, ash and acid-insoluble ash of Zanthoxyli Fructus

No.	Amount of xanthoxylin (%)	Ash (%)	Acid-insoluble ash (%)	Remarks
1	0.16 \pm 0.03	5.87 \pm 0.31	0.53 \pm 0.03	서울
2	1.51 \pm 0.08	5.82 \pm 0.24	0.69 \pm 0.09	서울
3	0.29 \pm 0.09	6.37 \pm 0.45	0.61 \pm 0.03	서울
4	0.07 \pm 0.01	6.33 \pm 0.55	0.80 \pm 0.10	서울
5	0.49 \pm 0.12	5.50 \pm 1.04	0.84 \pm 0.09	평택
6	1.20 \pm 0.25	4.67 \pm 0.23	1.28 \pm 0.20	분당
7	1.70 \pm 0.22	5.67 \pm 0.15	0.85 \pm 0.09	원주
8	0.17 \pm 0.02	5.93 \pm 0.68	1.57 \pm 0.29	춘천
9	0.02 \pm 0.01	5.47 \pm 0.25	1.19 \pm 0.24	영동
10	0.05 \pm 0.01	5.90 \pm 0.35	1.03 \pm 0.29	안동
11	0.82 \pm 0.03	5.93 \pm 0.06	0.53 \pm 0.09	대구
12	2.05 \pm 0.05	6.67 \pm 0.45	0.77 \pm 0.05	영주
13	1.16 \pm 0.14	6.40 \pm 0.00	0.76 \pm 0.08	부산
14	1.55 \pm 0.31	5.73 \pm 0.32	0.65 \pm 0.10	부산
15	0.05 \pm 0.01	6.67 \pm 0.98	0.73 \pm 0.02	대전
16	1.97 \pm 0.01	7.60 \pm 1.22	0.81 \pm 0.12	논산
17	2.26 \pm 0.17	5.87 \pm 0.23	0.38 \pm 0.09	금산
18	1.47 \pm 0.02	5.30 \pm 0.26	0.27 \pm 0.04	군산
19	2.67 \pm 0.15	7.17 \pm 1.14	0.75 \pm 0.30	광주
20	0.01 \pm 0.00	7.40 \pm 1.30	0.58 \pm 0.13	순천
21	0.01 \pm 0.00	5.01 \pm 0.08	0.66 \pm 0.13	울산
22	0.03 \pm 0.01	5.30 \pm 0.12	0.56 \pm 0.09	제주
23	0.00 \pm 0.00	5.11 \pm 0.05	0.58 \pm 0.11	충남대
	0.90	6.11 \pm 0.71	0.78 \pm 0.30	

결 론

1. 산초의 주요성분이며 여러 가지 약리활성이 있는 xanthoxylin을 지표성분으로 하여 HPLC에 의한 품질평가법을 확립하였다.

2. 전국에서 유통되고 있는 산초를 수집하여 xanthoxylin의 함량을 분석한 결과, 0.01-2.67%의 범위에서 나타났으며 평균함량은 0.90%이었다.

3. 회분 시험결과 평균 6.11±0.71%로 15개의 시료만이 대한약전 규정의 6.0% 이하에 적합하였고 나머지는 규정보다 많게 나타났다. 산불용성회분 시험결과 평균 0.78±0.30%로 모든 시료가 1.5% 이하로 규정된 대한약전 규정에 적합하였다.

사 사

본 연구는 2000년도 생약·한약재 품질 표준화연구(식품의약품안전청)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드린다. 또한 NMR 및 MS 측정은 기초과학연구소의 기기를 이용하여 분석하였으므로 이에 감사드린다.

인용문헌

1. 배기환(2001) 한국의약용식물, 292. 교학사, 서울.
2. Yasuda, I., Takeya, K., and Itokawa, H. (1982) Distribution of unsaturated aliphatic acid amides in Japanese *Zanthoxylum*

species. *Phytochemistry* 21: 1295-1298.

3. Huang, X., Kakiuchi, N., Che, Q, Huang, S., Hattori, M., and Namba, T. (1993) Effects of extracts of *Zanthoxylum* fruit and their constituents on spontaneous beating rate of myocardial cell sheets in culture. *Phytother. Res.* 7: 41-48.
4. 難波恒雄(1993) 원색화한약도감, 205-207. 보육사, 오사카.
5. 대한민국 보건복지부(1998) 대한약전 제7개정, 740. 한국메디칼인텍스사, 서울.
6. 중국과학원 식물연구소(1983) 중국고등식물도감, 142-152. 과학출판사, 북경.
7. 중화인민공화국 위생부 약전위원회(1995) 중화인민공화국 약전, 1부, 135. 광동과학기술출판사, 광주.
8. Fiho, V. C., Lima, E. O, Morais, V. M. F., Gomes, S. T. A., Miguel, O. G., Yunes, R. A. (1996) Fungicide and fungistatic effects of xanthoxylin, *J. Ethnopharmacol.* 53: 171-173.
9. Jin, Y., Shan, C. (1999) Effect of xanthoxylin on platelet aggregation in rabbits, *Zhongguo Yaolixue Tongbao*, 15: 186-187.
10. Wagner, H., Chari, V. M., Sonnenbichler, J. (1976) ¹³C-NMR spektren natuerlich vorkommender flavonoide. *Tetrahedron Lett.* 21: 1799-1802.

(2002년 1월 26일 접수)