

보골지와 염초보골지의 Psoralen과 Angelicin 함량 분석

김호경* · 이혜원 · 천진미 · 이아영 · 고병섭¹

한국한의학연구원 검사사업부, ¹한약제제연구부

Quantitative Analysis of Psoralen and Angelicin in the Psoraleae Semen and Processed Psoraleae Semen

Ho Kyoung Kim*, Hye Won Lee, Jin Mi Chun, A Yeong Lee, and Byoung Seob Ko¹

Department of Quality Control of Herbal Medicine and

¹Department of Herbal Research, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

Abstract – Psoralen is used in the treatment of vitiligo and angelicin(isopsoralen) is a photosensitizing agent. A reversed-phase high performance chromatographic method was developed to determine the contents of psoralen and angelicin from Psoraleae Semen and processed Psoraleae Semen. The contents of psoralen and angelicin from Psoraleae Semen showed 0.39% and 0.34% respectively. Processing Psoraleae Semen showed that increased the contents of psoralen (0.52%) and angelicin (0.50%).

Key words – Psoraleae Semen, Processed Psoraleae Semen, Psoralen, Angelicin, HPLC

보골지는 콩과(Leguminosae)에 속하는 일년생 초본인 보골지 *Psoralea corylifolia* Linne의 종자로 콩팥 모양이며 조금 납작하고 길이 3~5 mm, 너비 2~4 mm, 두께 약 2 mm이다. 표면은 흑색~흑갈색 또는 회갈색으로 그물 모양의 작은 무늬가 있고 위쪽은 둥글고 1개의 작은 돌기가 있으며 과병의 자국은 웁푹 들어가 있다. 절단면은 황백색이며 자엽이 2개 있고 기름기가 있다.^{1,2)} 이 약은 방향성이 있고 맛은 맵고 조금 쓰며 온신조양(溫腎助陽)작용이 강하다. 또한, 비신양하(脾腎陽虛)로 인한 설사(泄瀉)에 많이 사용되며 외용하면 반독(班禿), 은설병(銀屑病), 백반풍(白癬風)에 사용된다. 약리작용으로는 관상동맥 확장작용, 지혈작용, melanin 색소 신생작용, 장관홍분작용 등이 밝혀져 있다.^{3,9)}

염초보골지는 신찬온조(辛蠶溫燥)한 성질이 완화되고 상음(傷陰)하는 폐해를 피할 수 있어 약성을 이끌고 신장으로 들어가게 되며, 보신(補腎)의 작용이 증강되므로, 허리통증, 무릎이 시리거나 낭습이 찼을 때 모든 저린 증상, 골정(滑精), 유뇨(遺尿), 장결핵 등에 사용된다.³⁾

보골지의 주요성분으로는 정유, resin, coumarin 및 flavonoid 화합물 등이 함유되어 있고¹⁰⁾ coumarin 유도체로는 광활성물질인 psoralen, angelicin(isopsoralen), psoralidin,

bavachinin 등이, flavonoid 화합물은 coryfoilin, corylifolinin 등이 있다.⁹⁾ 성분에 관한 연구로는 보골지로부터 psoralen과 angelicin을 분리하여 그의 함량을 조사한 연구¹¹⁾와 포제 방법에 따른 함량연구가 보고된 바 있다.^{12,13)}

본 연구는 정량시험법 및 함량기준이 규정되어 있지 않은 보골지와 염초보골지에 대하여 보골지의 주성분으로 포제 후에 변화하는 성분¹²⁾인 psoralen과 그의 이성질체인 angelicin을 표준품으로 설정하여 포제 방법에 따른 성분함량 및 건조감량, 회분, 산불용성회분, 엑스함량을 비교 분석하여 통일된 제법과 이화학적 규격기준을 설정하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에서 사용한 보골지는 2003년 서울, 대전, 대구, 화순지역 및 중국의 약령시장에서 포제 시험용 시료 10품목을 구입하여 분쇄한 후 사용하였다.

시약 및 기기 – 분석용 시약 중 표준물질인 psoralen과 angelicin은 Sigma사(U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며, HPLC 분석을 위한 용매는 TEDIA(U.S.A.)사의 HPLC grade 제품을, 한약재 출판용 시약은 국내산 특급시약을 사용하였고 HPLC는 Shimadzu LC-10A_{VP} System Controller, LC-10AT_{VP} Pump, SPD-10A_{VP} UV-VIS Detector, SIL-10AD_{VP} Auto Injector(Japan)를 사용하였다. 화학로는

*교신저자(E-mail) : hkkim@kiom.re.kr
(FAX) : 042-863-9434

Barnstead Thermolyne사의 F4800 Furnace를 사용하였다.

포제 – 보건복지부 고시『한약재 수급 및 유통관리규정』 제 28조[별표 4]의 제조기준과 “한약재 수치법제의 규격화 연구” 보고서에 의하여 포제방법을 선택하여 포제하였다.¹⁴⁾

염초보골지 – 깨끗한 보골지 150 g을 2% 소금물에 4시간 동안 스며들게 한 다음 솔 안에 넣고 가마솥 바닥의 온도를 70~80°C의 약한 불을 유지하면서 약간 부풀어 오르며 향기가 날 때까지 둑은 후 식혀서 45°C 건조기에서 건조하였다. 각각의 시료에 대하여 3회 반복포제하였으며 이들 각각의 시료에 대하여 시험하였다.

건조감량시험 – 무게를 단 칭량병에 시료 2~6 g을 넣어 무게를 정밀하게 측정하여 105°C에서 5시간 건조하고, 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀하게 측정하였다. 이것을 다시 105°C에서 1시간마다 건조하고 무게를 정밀하게 측정하여, 함량이 되었을 때의 감량을 건조감량(%)으로 하였다.¹⁵⁾

회분시험 – 사기도가니를 550°C에서 1시간 이상 강열하여 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀히 달았다. 시료 2~4 g을 사기도가니에 넣어 무게를 정밀하게 측정한 후 회화로에 넣어 서서히 온도를 올리면서 550°C에서 4시간 이상 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하여 데시케이터에서 방냉한 다음 무게를 정밀하게 측정하여 회분량(%)으로 하였다.¹⁵⁾

산불용성회분시험 – 사기도가니를 550°C에서 1시간 이상 강열하여 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀히 측정하였다. 회분에 둑은 염산 25 ml를 천천히 조심스럽게 넣고 5분간 가만히 끓여 불용물을 정량용여과지를 써서 여과한 후 열탕으로 잘 씻어 잔류물을 여과지와 함께 건조하였다. 무게를 정밀하게 측정한 사기도가니에서 3시간 강열(550°C)하여 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀하게 측정하여 산불용성회분량(%)으로 하였다.¹⁵⁾

묽은에탄올엑스시험 – 시료 약 2.3 g을 정밀하게 달아 적당한 플라스크에 넣고 둑은에탄을 70 ml를 넣어 때때로 혼들어 섞어 5시간 침출하였다. 다시 16~20시간 방치한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml로 될 때 까지 둑은 에탄올로 씻은 다음 여액 50 ml를 수욕에서 증발건고하고 105°C에서 4시간 건조하여 데시케이터(실리카겔)에서 식힌 다음 그 질량을 정밀하게 달고 2를 곱하여 둑은에탄올엑스의 양으로 하였다. 건조감량에서 얻은 값에서 건조물로 환산한 검체량에 대한 엑스함량(%)을 산출하였다.¹⁵⁾

HPLC 조건 – 표준액 및 검액의 HPLC 조건은 다음과 같다. Column은 Luna C₁₈(4.6×250 mm, 5 μm, Phenomenex)를 사용하였고 이동상으로는 CH₃CN:H₂O = 40:60 (v/v)이 되도록 하였다. 유속은 1.0 ml/min으로 UV Detector 파장

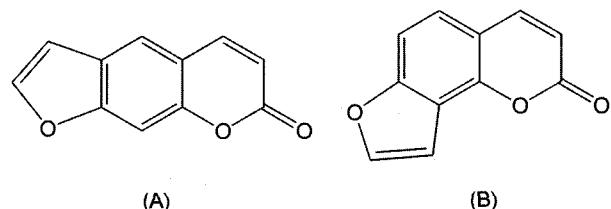


Fig. 1. Chemical structure of psoralen(A) and angelicin(B).

은 245 nm에서 고정하여 실시하였다.¹¹⁾

표준액의 조제 – 표준품 psoralen, angelicin을 각각 0.97, 1.0 mg을 HPLC용 메탄을 10 ml에 녹이고 이것을 stock solution으로 psoralen은 97, 48.5, 24.25, 12.125 μg/ml, angelicin은 100, 50, 25, 12.25 μg/ml를 단계적으로 희석하여 검액을 만들어 검량용 표준용액으로 하였다. 표준용액 10 μl를 HPLC로 분석하여 chromatogram의 면적을 구하고 이들의 면적과 표준용액의 농도를 변수로 한 검량선을 작성하였고 상관계수는 각각 1.000, 1.000이었다.

검액의 조제 – 시료 2.0 g을 정확히 평량하여 메탄을 50 ml를 가해 2시간 환류 추출한 다음 여과하였다. 잔류물에 메탄을 50 ml를 넣어 같은 방법으로 2회 반복 조작하였다. 여액을 모두 합하여 감압농축한 후 메탄올로 정확하게 50 ml로 하여 0.45 μm syringe filter로 여과한 여액을 검액으로 사용하였다. 각각의 검액 10 μl씩 HPLC로 분석하여 얻은 chromatogram의 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로부터 각각의 psoralen 및 angelicin의 함량을 구하였고 시료에 대해 3회 반복하여 함량(%)을 산출하였다.

결과 및 고찰

본 연구는 공정서에 정량시험법 및 함량기준이 규정되어 있지 않은 보골지와 염초보골지에 대하여 보골지의 주성분으로 포제 후에 변화하는 성분¹²⁾인 psoralen과 그의 이성질체인 angelicin을 지표물질로 설정하여 포제 방법에 따른 성분함량 및 건조감량, 회분, 산불용성회분, 엑스함량을 비교 분석하여 통일된 제법과 이화학적 규격기준을 설정하고자 하였다.

HPLC의 분석조건으로는 Phenomenex C₁₈ column을 이용하여 CH₃CN:H₂O = 40:60 (v/v)을 유속 1.0 ml/min으로 용출시켜 Fig. 2와 같이 retention time 약 12.54, 13.63분에서 psoralen과 angelicin의 peak를 양호하게 분리할 수 있었다. 보골지 및 염초보골지를 HPLC로 분석하여 각 시료들의 함유된 표준물질의 함량을 구하였다.

보골지의 psoralen 평균함량은 각각 0.39 ± 0.13% (n=10)로 시료에 따라 0.27~0.73%의 분포를 보였으며 angelicin의

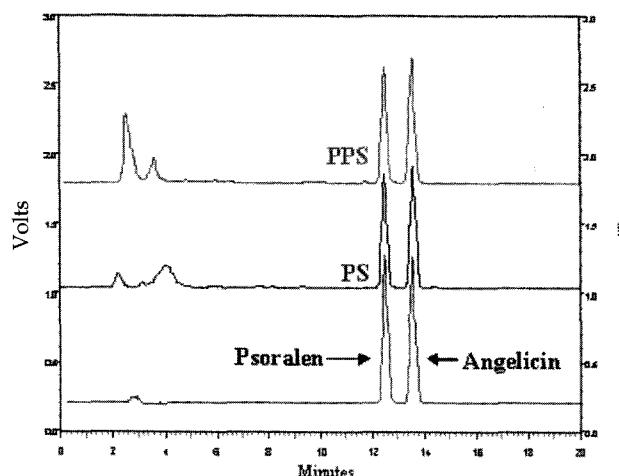


Fig. 2. HPLC chromatogram of psoralen and angelicin quantitative analysis from Psoraleae Semen (PS) and Processed Psoraleae Semen (PPS).

평균함량은 0.34 ± 0.19 ($n=10$)로 시료에 따라 0.20~0.84%의 분포를 보였다(Table I). 염초보골지의 경우 psoralen의 함량은 평균 $0.52 \pm 0.18\%$ ($n=10$)로 시료에 따라 0.34~0.85%의 분포를 보였으며 angelicin의 함량은 평균 $0.50 \pm 0.20\%$ ($n=10$)로 시료에 따라 0.29~0.94%의 분포를 보였다(Table II). 보골지를 염초보골지로 포제를 하면 psoralen과 angelicin의 함량이 모두 증가하는 것을 알 수 있었다.

보골지의 건조감량 시험 결과 평균 $6.28 \pm 0.89\%$ ($n=10$) 이었고 시료 모두 대한약전외한약(생약)규격집²⁾에서 규정하고 있는 8.0% 이하였다. 회분은 평균 $6.26 \pm 1.04\%$ ($n=10$)로서 대한약전외한약(생약)²⁾규격집에서 규정하고 있는 8.0% 이하로 시료 모두 기준치 이내였다. 산불용성회분 시험결과 평균 $1.47 \pm 0.82\%$ ($n=10$)였고, 2개의 시료를 제외하고는 나머지 시료 모두 대한약전외한약(생약)규격집에서 규정하고 있는 2.0% 이하였다. 엑스함량은 묽은에탄올액스가 평균

Table I. Contents of psoralen and angelicin, loss on drying, residue on ignition, residue on acid insoluble ignition and extracts from Psoraleae Semen(補骨脂)

Sample	Psoralen amounts (%)	Angellicin amounts (%)	Loss on drying (%)	Residue on ignition (%)	Residue on acid insoluble ignition (%)	Extracts (%)
1	0.30	0.24	6.23	4.75	0.39	26.9
2	0.32	0.23	5.08	6.89	2.24	28.8
3	0.27	0.20	6.42	5.47	0.82	30.0
4	0.34	0.27	6.80	6.44	1.80	33.7
5	0.39	0.31	7.35	8.31	2.76	22.6
6	0.34	0.27	7.30	6.60	1.84	26.6
7	0.40	0.31	6.95	6.47	1.71	26.3
8	0.47	0.40	5.09	6.89	1.98	26.3
9	0.73	0.84	6.39	5.52	0.44	18.1
10	0.33	0.28	5.15	5.22	0.75	28.5
Average	0.39	0.34	6.28	6.26	1.47	26.8
SD	0.13	0.19	0.89	1.04	0.82	4.20

Table II. Contents of psoralen and angelicin, loss on drying, residue on ignition, residue on acid insoluble ignition and extracts from processed Psoraleae Semen(鹽炒補骨脂)

Sample	Psoralen amounts (%)	Angellicin amounts (%)	Loss on drying (%)	Residue on ignition (%)	Residue on acid insoluble ignition (%)	Extracts (%)
1	0.37	0.36	1.71	5.66	0.50	31.2
2	0.85	0.78	2.07	7.11	1.01	33.9
3	0.34	0.29	2.41	5.90	0.64	29.0
4	0.46	0.40	2.10	6.85	1.22	24.3
5	0.48	0.43	1.93	9.15	2.37	28.5
6	0.41	0.37	3.44	6.36	1.36	28.4
7	0.43	0.43	2.36	7.43	1.46	34.4
8	0.57	0.52	2.70	7.62	1.89	30.6
9	0.83	0.94	1.57	6.94	0.61	20.6
10	0.44	0.43	2.32	5.66	0.54	25.2
Average	0.52	0.50	2.26	6.87	1.16	28.6
SD	0.18	0.20	0.53	1.07	0.63	4.30

$26.8 \pm 4.20\%$ ($n=10$)로서 대한약전외한약(생약)규격집에서 규정하고 있는 묽은에탄올엑스 20.0% 이상에 1개 시료를 제외하고 나머지 시료 모두 20.0% 이상이었다(Table I).

염초보골지의 건조감량 시험 결과 평균 $2.26 \pm 0.53\%$ ($n=10$)이었고 시료에 따라 1.57~3.44% 정도의 분포를 나타내었고, 회분함량은 $6.87 \pm 1.07\%$ ($n=10$)로서 시료에 따라 5.66~9.15%의 분포를 나타내어 1개 시료를 제외하고는 8.0% 이하였다. 산불용성회분 시험결과 평균 $1.16 \pm 0.63\%$ ($n=10$)로 시료에 따라 0.50~2.37%이었으며 엑스함량은 묽은에탄올엑스가 $28.60 \pm 4.30\%$ ($n=10$)로 20.6~34.4%의 분포를 나타내었다(Table II).

결 론

보골지의 지표성분 및 포제품의 규격이 설정되어있지 않으므로 psoralen과 angelicin을 표준품으로 설정하여 포제전·후의 이화학적 규격기준을 설정하였다.

1. 보골지의 지표성분을 psoralen과 angelicin으로 설정하여 시험한 결과 psoralen의 평균함량은 $0.39 \pm 0.13\%$ 이고 angelicin의 평균함량은 $0.34 \pm 0.19\%$ 로 psoralen은 시료 모두 0.25% 이상이었고 angelicin은 0.2% 이상이므로 psoralen 0.25% 이상, angelicin 0.2% 이상 규정하는 것이 타당하다고 사료된다. 염초보골지의 경우 psoralen의 평균함량은 $0.52 \pm 0.18\%$ 이고 angelicin의 평균함량은 $0.50 \pm 0.20\%$ 로 보골지를 염초보골지로 포제를 하면 psoralen과 angelicin 둘다 함량이 증가하는데 2개 시료를 제외하고 psoralen은 0.4% 이상이고 angelicin은 1개 시료를 제외하고 시료 모두 0.3% 이상이므로 psoralen 0.4% 이상, angelicin 0.3% 이상으로 규정하는 것이 적합하다고 사료된다.

2. 보골지의 건조감량 시험 결과 평균 $6.28 \pm 0.89\%$ 이었고 시료 모두 대한약전외한약(생약)규격집에서 규정하고 있는 8.0% 이하였으므로 건조감량 규정을 8.0% 이하로 규정하는 것이 적합하다고 사료된다. 염초보골지의 건조감량 시험결과 평균 $2.26 \pm 0.53\%$ 이었고 시료에 따라 1.57~3.44%의 분포를 나타내며 시료 모두 4.0% 이하이므로 염초보골지의 건조감량은 4.0% 이하로 규정하는 것이 적합하다고 사료된다.

3. 보골지의 회분 시험 결과 평균 $6.26 \pm 1.04\%$ 로서 대한약전외한약(생약)규격집에서 규정하고 있는 8.0% 이하로 시료 모두 기준치 이내였다. 따라서 보골지의 회분 규정을 8.0% 이하로 규정하는 것이 적합하다고 사료된다. 염초보골지의 회분시험 결과 평균 $6.87 \pm 1.07\%$ 로 1개 시료를 제외하고 8.0% 이하이므로 회분 규정을 8.0% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 사료된다.

4. 보골지의 산불용성회분 시험 결과 평균 $1.47 \pm 0.82\%$ 로

2개의 시료를 제외하고는 대한약전외한약(생약)규격집에서 규정하고 있는 2.0% 이하였다. 따라서 보골지의 산불용성회분 규정을 2.0% 이하로 규정하는 것이 적합하다고 사료된다. 염초보골지의 산불용성회분시험 결과 평균 $1.16 \pm 0.63\%$ 로 1개의 시료를 제외하고 2.0% 이하이므로 산불용성회분 기준을 2.0% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 사료된다.

5. 보골지의 엑스함량 시험 결과 묽은에탄올엑스가 평균 $26.8 \pm 4.20\%$ 로 1개 시료를 제외하고 대한약전외한약(생약)규격집에서 규정하고 있는 묽은 에탄올엑스 20.0% 이상이었다. 따라서 보골지의 엑스함량 규정을 20.0% 이상으로 규정하는 것이 적합하다고 사료된다. 염초보골지의 엑스함량은 묽은에탄올엑스가 $28.6 \pm 4.30\%$ 로 시료 모두 20.0% 이상을 나타내어 묽은에탄올엑스 기준을 20.0% 이상으로 규정하는 것이 적합하다고 생각한다.

사 사

본 연구는 식품의약품안전청에서 지원한 2003년도 한약제 품질관리 모니터링 사업의 일환으로 수행된 『한약재 포제품의 규격 제정 연구(I)』 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 한국의약품수출입협회(2003) 한약재감별주해, 248-250. 도서출판 대영, 서울.
- 식품의약품안전청(2002) 대한약전외한약(생약)규격집, 177. 동원출판사, 서울.
- 신문농출판공가(1995) 중약대사전, 2782. 일중사, 서울.
- 王浴生(1983) 中藥藥理與應用, 547-550. 人民衛生出版社, 北京.
- 김재길(1992) 임상응용 한약포제학, 275-278. 약업신문사, 서울.
- 육창수, 남수영, 예재호, 유기숙, 김형근(1992) 한약학 II, 660-661. 광명의학사, 서울.
- 中華人民共和國衛生部藥典委員會(1985) 中華人民共和國藥典 1部, 154. 人民衛生出版社, 北京.
- 新文風出版公司(1982) 新編中藥大辭典(下), 2068-2070. 新文風出版公司, 臺北.
- 中國醫學科學院藥物研究所(1984) 中藥志(第3冊), 429-435. 人民衛生出版, 北京.
- 전국한의과대학 본초학 교수 공동저(1991) 本草學, 559-560. 영림사, 서울.
- Nguyen Thanh Dong, Ki Hwan Bae, Young Ho Kim, Gwi Seo Hwang, Ok Soon Hwang, Se Eun Kim, and Jong Seong Kang (2003) Quantitative determination of psoralen and angelicin from some medicinal herbs by high performance liquid chromatography. *Arch. Pharm. Res.* 26(7): 516-520.

12. Yang, B., Yao, S., and Cui, S. (1996) Comparison of ancient and modern processing methods for fructus Psoraleae, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. **21**(9): 537-539.
13. Tan, S., Wang, Y., Liu, G., Guo, D., and Han, J. (1995) Determination of psoralen and isopsoralen in tincture of fructus Psoraleae by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. **20**(2): 99-100.
14. 김호철(2001) 한약재 수치법제의 규격화 연구, 374-379. 보건복지부, 서울.
15. 식품의약품안전청(2002) 대한약전 제 8개정, 1654-1655. (주)약업신문, 서울.

(2004년 1월 16일 접수)