

한약재 수처에 관한 연구(VIII)

- 당고특대황으로부터 조제한 주초대황의 주성분 함량변화 -

이윤미 · 이상원 · 김현정 · 조정희* · 김진숙**
한국한의학연구원, * 식품의약품안전청, ** 교신저자

Abstract

Studies on the Processing of Herbal Medicines(VIII)

- HPLC Analysis of Standard Compounds of Processed Rhei rhizoma from root of *R. Tanguticum* -

Lee Yunmi, Lee Sangwon, Kim Hyunjung, Cho Junghee*, Kim Jinsook**

Korea Institute of Oriental Medicine

* Korea Food & Drug Administration

** Corresponding Author

Rhei rhizoma was processed into Jucho Daewhang according to the method of chinese pharmacopoeia. The contents of Sennoside A, B, Aloe-emodin, Chrysophanol, Emodin, and Rhein were analyzed by HPLC.

Key words : processing, *Rheum Tanguticum*, Jucho Daewhang, Sennoside A, Sennoside B, Aloe-emodin, Chrysophanol, Emodin, Rhein

1. 서론

수치란 한약의 독성을 감소시키거나 또는 원하는 약효 성분을 증가(또는 감소)시키기 위하여 일정한 방법으로 한약을 가공하는 일종의 한방 제제 기술이다.

대황은 『神農本草經』 下品에 기록된 이래 지

금까지 임상에서 광범위하게 쓰이고 있다. 마디 풀과에 속하며, 장엽대황(*Rheum palmatum*), 당고 특대황(*R. tanguticum*), 약용대황(*R. officinale*), 종대황(*R. undulatum*), 장군풀(*R. corearum*), *R. emodi* 등의 뿌리 줄기를 건조한 것이다. 대황은 금문대황계와 종대황계로 분리되는데, 금문대황, 장군풀, 唐古特大黃, 약용대황이 금문대황계에

속하며, 여기에 속하는 대황은 약용가치가 높고 우수한 것으로 알려져 있다¹⁾. 『대한약전』과 『중국약전』에는 *R. palmatum*, *R. corearum*, *R. tanguticum*, *R. officinale* 의 뿌리 줄기로 정의하고 있다. 『일본약전』에서는 위의 대황 이외에 *Rheum corearum*이 추가되었다. 대황은 썬, 寒하며 脾, 胃, 肝, 心, 大腸經으로 들어가 瀉火解毒, 清熱清血, 活血祛瘀, 清熱燥濕, 清熱攻下의 효능을 나타낸다²⁾. 그리고 수처방법은 사용되는 보료 및 제조방법이 다양하여 원하는 약효에 맞추어 酒大黃, 炒大黃, 大黃炒炭, 熟大黃, 煨大黃 등으로 제조하여 사용하고 있다.

대황의 주성분은 anthraquinone 유도체로서, 사하작용의 유효성분인 anthracene glycoside인 sennoside류(A~F)가 있으며, 또한 유리상태의 배당체인 emodin, aloe-emodin, rhein, chrysophanol, physion 등이 있다¹⁾. 이와 같은 주성분들은 수처방법에 따라 화학적으로 특이하게 변화하여 고

유의 약효를 유발한다.

주초대황은 현재 중국의 법정 포제대황이다. 대황과 술을 섞어 대황 내부에 술을 침투시킨 후에 볶는 것이다. 초법을 통하여 사하효능을 제거하고, 청열(淸熱)의 효능을 부각시키면서 술을 이용하여 약효가 상초(上焦)인 머리, 인후, 눈부위까지 올라가 작용하게 하여 상초(上焦)의 열사(熱邪)를 대변으로 배출시킨다. 또한 혈분의 열독(熱毒)을 식히는 작용과 이혈작용(理血作用)이 강화되어 혈행(血行)을 원활하게 하고 열독으로 인한 어혈을 제거한다[活血行瘀]. 즉 주초(酒炒)의 방법은 약효의 강화 뿐 만 아니라, 작용부위의 확대를 도모한 제조법이다. 또한 보료로 가한 술이 약재 내부로 들어가므로 보료의 양이 많지 않을 때 약재 중의 유효성분은 손실되지 않는다.

주초대황을 조제하는 술의 종류 및 술의 양은 Table 1, 2와 같다.

Table 1. Alcohols for the processing of Jucho Daewhang

	황주[糯米酒]	백주[小麥酒](소맥:밀)
지역	북경, 천진, 산둥, 흑룡강, 요령, 귀주에서 주로 사용	河南지역에서 주로 사용
시기	漢代: 上品 宋代: 약으로 사용	宋代: 약을 복용할 때 사용치 않았다.
작용	宣, 通, 行하는 작용으로 효능을 上焦로 끌어올린다. 백주보다 독이 적다	有毒

Table 2. Alcohol amount for the processing of Jucho Daewhang

지역	북경, 천진	흑룡강	귀주	내몽고
술의 양	10 % (중국약전에는 10%로 제정되어 있음)	5 %	4 %	적당량

본 연구팀은 한약재 수치에 관한 연구를 수행하고 있으며³⁻⁹⁾, 특히 당고특대황으로부터 주초대황을 조제하여 그 주성분 함량을 분석하였다. 중국약전은 저온[文火]에서 초(炒)하며 술의 양은 10%로 규정되었다. 이에 10%의 보료를 가지고 50 ℃ 내외에서 초(炒)를 진행하여 주성분의 함량변화를 보았다.

2. 실험방법

1) 시약 및 기기

HPLC는 P4000, auto sampler AS3500, detector UV1000의 TSP(USA)사 기기와 pump P580, injector ASI-100, detector UVD340S의 Dionex 사(USA) 제품을 사용하였다. 동결건조기는 LABCONCO 사(미국) 제품인 Freezone 12를, sonicator cleaner는 Branson, 8210R DTH(미국)를 사용하였다. 표준물질인 Sennoside A, Sennoside B, Emodine, Aloe-emodin, Rhein, Chrysophanol 등은 Wako(일본)사와 Sigma(미국)사 제품을 사용하였다. HPLC 용매는 Merck사(독일) 제품을 사용하였으며, 그의 시약은 1급 시약을 사용하였다.

2) 실험재료

중국 청해성에서 당고특대황을 구입하였다. 중국 연변의 장귀군 교수와 하얼빈대학의 김철웅 교수가 감정하였다. 표준품은 본 연구원에 보관하고 있다(KIOM-100). 대황의 절단면에는 약전

에서 요구하는 방선문(star spot) 모양이 선명하게 보였으며, UV 하에서 rhapsodicin으로 추정되는 푸른색 형광도 관찰되지 않았다. 무작위로 취하여 대한약전과 중국약전에서 제시하고 있는 방법으로 sennoside A와 emodin과 chrysophanol의 함량을 분석하여 표준품으로써 합격 유무를 확인하였다. 즉 『대한약전』에 요구하는 sennoside A의 함량은 0.25% 이상이었고 『중국약전』에서 요구하는 emodin과 chrysophanol의 총 함량도 0.5% 이상으로 정품이었다.

3) 한약재의 수치방법 및 검액과 표준액의 제조

① 주초대황의 조제

당고특대황을 일정한 크기로 절단한 후 약재 50 g씩을 취하여 막걸리(쌀 : 전분당 = 90 : 10; 서울장수막걸리: 서울탁주 강동연합제조장)와 균일하게 섞어 모두 약재에 흡수되기까지 밀폐상태에서 방치한 후, 초(炒)할 때 대황 고유의 냄새가 날 때까지 볶았다. 아래와 같은 여러 조건에서 실시하였다. 보료의 양은 10%를 택하였다. 10%는 중국약전과 문헌에 규정된 조건이다. 보료가 흡수되는 시간을 측정할 결과 약 40분 정도면 충분하였다. 중국약전에는 약한 불[文火]에서 수치를 하도록 규정되어 있으므로 100 ℃ 이상의 온도는 피하였고, 55 ~ 65 ℃에서 초(炒)하였다. 이때 초(炒) 하는 시간은 대황의 절단면의 색상이 변화되고, 대황 특유의 냄새가 나기까지 하여 stop watch로 시간을 측정하였다.

Table 3. The processing conditions of Jucho Daewhang

항 목	조 건
보료의 양	10 %
보료가 흡수되는 시간	40 분
초(炒) 온도	55 ~ 65 °C
초(炒)하는 시간	9 분대

② 표준액의 조제

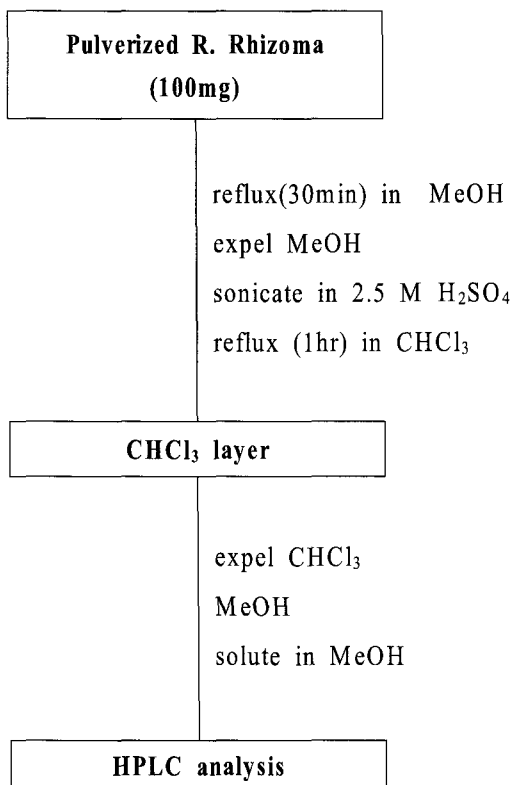
표준시약(sennoside A, sennoside B, aloe-emodine, rhein, emodin, chrysophanol)들을 P_2O_5 가 들어있는 데시케이터(0.67kPa 이하)에서 12 시간 이상 건조한 후 정확하게 칭량하여 제조하였다.

Anthracene glycoside 계통인 sennoside A와 B의 함량은 『대한약전』에 수제된 방법으로 전처리하여 분석하였다. Sennoside A, sennoside B 10 mg을 정확히 달아 $NaHCO_3(1 \rightarrow 1000)$ 용액에 녹여 정확하게 50 ml로 한 다음, 5 ml를 취하여 $NaHCO_3(1 \rightarrow 1000)$ 용액을 가하여 20 ml로 조제하였다. sennoside A는 0.2 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.0125 mg/ml으로 조제하여 검량곡선을 구하였으며, sennoside B는 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.125 mg/ml, 0.0625 mg/ml, 0.03125 mg/ml으로 조제하였다.

Aglycone anthracene 계통인 aloe-emodine, rhein, emodin, chrysophanol의 함량은 중국약전에 수제된 방법으로 전처리하여 분석하였다. 각각의 표준물질을 정확하게 10 mg 달아 메탄올용액 10 ml에 녹여 0.2 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.0125 mg/ml으로 조제하여 표준액으로 사용하였다.

③ 검액의 조제

수치전·후 대황을 분말로 한 후 P_2O_5 가 들어있는 데시케이터(0.67kPa 이하)에서 12 시간 이상 건조한 후 anthracene glycoside를 분석을 위하여 0.5 g을 정확하게 달아 $NaHCO_3(1 \rightarrow 1000)$ 500 ml를 정확하게 넣어 30분간 흔들어서 섞은 다음 여과하여 검액으로 사용하였다. Aglycone anthracene의 분석을 위하여 0.1 g을 정확하게 칭량하고 메탄올 25 ml를 가하고 다시 칭량하였다. 이것을 reflux 상태에서 30 분간 가열하고 식힌 후 다시 칭량하여 손실된 만큼의 메탄올을 가하고 혼합, 여과한 후 이중에서 5 ml를 정확하게 취한 후 농축하였다. 여기에 2.5M H_2SO_4 10 ml를 가하고 ultrasonicator에서 10분간 추출하였다. 여기에 $CHCl_3$ 를 가하고 환류 상태에서 1 시간동안 가열하였다. 이를 식힌 후 분액여두에서 $CHCl_3$ 층을 분리하여 감압건조 하였다. 여기에 메탄올 10 ml를 정확하게 가하고 칭량한 후 미온에서 완전히 용해하여 식힌 후 칭량하여 손실된 만큼 메탄올을 가하였다. 이중 10 μ l를 HPLC에서 분석하였다 (Scheme 1).



Scheme 1. Pretreatment of R. Rhizoma for aglycone anthraquinone compounds analysis

④ HPLC 분석

Sennoside A와 Sennoside B의 함량을 『대한약전』에 수재된 조건에서, aloe-emodin, rhein, emodin,

chrysophanol의 함량은 『중국약전』에 수재된 조건대로 분석하였다(Table 4). 수치 전·후 대항 (n=5)을 취하여 2회 반복 분석하였다.

Table 4. HPLC analysis conditions in KP and CP

	Anthracene glycoside ¹⁾	Aglycone anthracene ²⁾
Stationary phase	Luna C ₁₈ (250×4.6mm)	Luna C ₁₈ (250×4.6mm)
Mobile phase	AcOH(1→80):ACN=4:1	MeOH:1.0% Phosphoric acid=85:15
Flow rate	1 ml/min.	1 ml/min.
Detection	340 nm	254 nm
Injection vol.	10 μl	10 μl

3. 결과 및 고찰

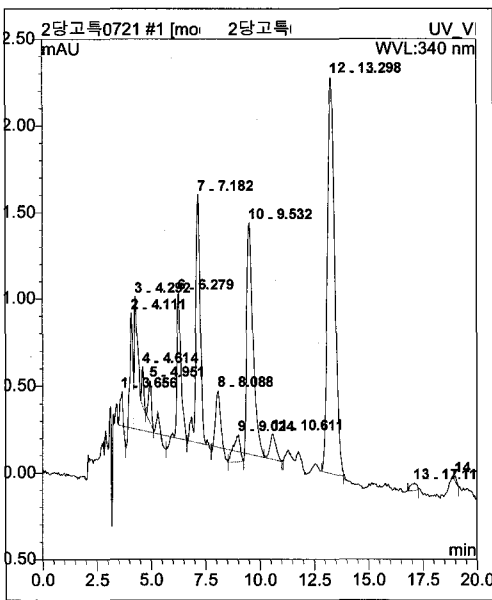
Sennoside A, Sennoside B, aloe-emodin, chrysophanol, emodin, rhein의 회귀방정식은 모두 직선상으로 나타났다(Table 5). Sennoside A와 Sennoside B는 HPLC 크로마토그램에서 각각 13.3분, 7.18

분에서 확인되었다. 또한 aloe-emodin은 5.2분, chrysophanol은 11.56분에서, emodin은 9.53분에서 Rhein은 6.24분에서 각각 나타났다(Fig.1). 수치 전·후 대항 추출물의 경우 각각의 standard compound 피이크는 spike test로 확인하였다.

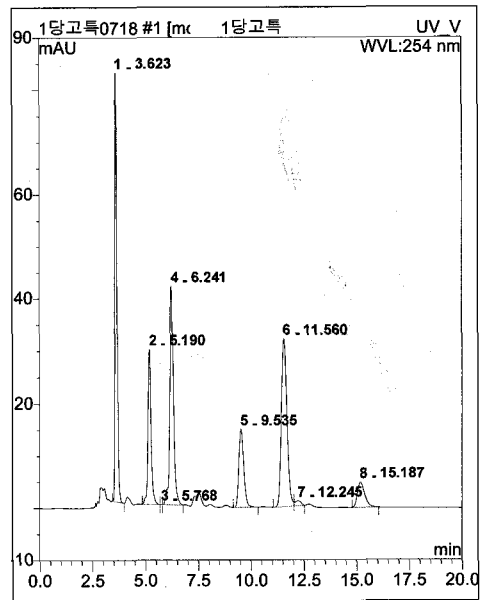
Table 5. The Calibration curves of standard compounds

Standard compound	Calibration curve
Sennoside A	$y=9.5595 x+0.0103(r^2=0.9995)$
Sennoside B	$y=7.3637 x-0.0449(r^2=0.9999)$
Aloe-emodin	$y=64.674 x+0.0557(r^2=0.9996)$
Rhein	$y=67.461 x-0.0115(r^2=0.9999)$
Emodin	$y=50.747 x-0.0217(r^2=0.9999)$
Chrysophanol	$y=52.213 x-0.071 (r^2=0.9994)$

y: peak area, x: injected amount, μg



(1)



(2)

Figure 1. HPLC Chromatograms of the root of *R. Tanguticum*

(1) Sennoside A: 13.3 min., Sennoside B: 7.18 min.

(2) Aloe-emodin: 5.2 min., Rhein: 6.24 min., emodin: 9.53 min., Chrysophanol: 11.56 min.

Table 6. Content(%) of anthraquinone compounds of Jucho Daewhang

Std. compd.		Sennoside A	Sennoside B	Aloe-emodin	Rhein	Emodin	Chryso-phanol
당고특대황	absolute content(%)	0.94±0.04	0.51±0.03	0.19±0.04	0.51±0.03	0.58±0.05	0.63±0.01
	relative content(%)	100	100	100	100	100	100
주초대황	absolute content(%)	0.74±0.01	0.33±0.04	0.25±0.06	0.51±0.08	0.58±0.01	0.78±0.00
	relative content(%)	78.7	51.4	131.6	100	100.2	122.7

일반적으로 55 ~ 65 °C 부근에서 초(炒)하는 과정을 통하여 glycoside류는 분해감소 되었고, 반면에 aglycone류는 증가하는 경향을 보였다. 대황의 사하작용의 기전은 anthracene glycoside 가 대부분 흡수되지 않고 직접 대장에서 환원되어 anthrone으로 전환되어, 장점막을 자극하고 동시에 Na⁺의 이동을 억제하여 대장내의 수분을 증가시키고 연동운동을 항진하여 설사를 일으키는 것으로 알려졌다¹⁾. 이러한 성분들이 수치과정을 통하여 특히 Sennoside A는 약 78 %, Sennoside B는 51 %로 감소되었다. 사하효능을 저하시키

기 위하여 초(炒)하는데, 수치 전에 비해서 Sennoside A와 B의 함량이 현저하게 감소됨이 증명되었다. 이러한 결과를 기초로 약전 또는 고서 문헌 등에서 “문화(文火)”로 표현된 온도가 50 ~ 60 °C 내외가 적합하지 않을까 사려 된다. 또한 “수치대황”의 약리작용에 대한 지속적인 연구도 필요하다고 생각한다.

검색어 : 수치, 당고특대황, 주초대황, 센노사이드 A, B, 알로에-에모딘, 크리소파놀, 에모딘, 레인

참고문헌

- 1) 김호철, 한약약리학, 174-177, 집문당, 2001
- 2) 신민교, 임상본초학, 463, 영림사, 1997
- 3) 김진숙, 김현정, 고진희, 마진열, 이민형, 한약재 수치에 관하여(I) -수치전후의 한약재의 표준 색도표에 의한 색상변화- 한국한의학연구원논문집,8(1), 105-108, 2002
- 4) 김현정, 김진숙, 한약재 수치에 관하여(II) 수유, 황기의 수치전후 지표물질의 함량분석- 생약학회지, 33(4), 305-307, 2002
- 5) 김진숙, 김현정, 고진희, 한약재 수치에 관하여(III) - 후박의 수치전후 Magnolol의 함량분석 및 시험관내에서 최종당화산물 생성억제 효능- 생약학회지, 33(4), 308-311, 2002
- 6) 김현정, 김진숙, 한약재 수치에 관하여(IV) - 수치전후 외부 한약재의 표준색도표에 의한 색상변화- 한국한의학연구원논문집,8(2), 121-124, 2002
- 7) 김현정, 김진숙, 한약재 수치에 관하여(V) - 갈근의 수치전후 Puerarin의 함량분석 및 시험관내에서 최종당화산물 생성억제 효능- 한국한의학연구원논문집, 9(1), 123-127, 2003
- 8) 이윤미, 김진숙, 한약재 수치에 관하여(VI) - 건강과 산약의 수치전후 지표물질의 함량분석- 한국한의학연구원논문집, 9(2), 69-74, 2003
- 9) 김진숙, 한약재 수치에 관하여(VII) - 천남성의 수치방법에 의한 uracil의 함량분석- 한국한의학연구원논문집, 9(2), 75-82, 2003