

찔광이의 HPLC지문그림작성과 감별에 대한 연구

문충생, 박철순

고려약의 치료효능은 해당 고려약중에 포함되어있는 특정의 개별성분의 작용으로 보지 않고 여러가지 성분들의 종합적효능으로 보는 견해로부터 고려약의 규격화에서도 그 종합성분을 반영한 평가기준을 옳게 설정하는 문제가 중요한 과제로 나선다.

우리는 산찔광이와 왕찔광이[1]의 HPLC지문그림과 찔광이[2]의 HPLC지문그림을 비교하여 감별특징을 밝히기 위한 연구를 하였다.

시료로는 찔광나무(*Crataegus pinnatifida* Bge.)와 왕찔광나무(*C. Pinnatifida* var. *major* N. E. Br.), 산찔광나무(*C. maximowiczii*)의 열매, 클로로젠산, 루틴, 우르솔산, 에틸알콜(분석순), 메틸알콜(분석순), 아세토니트릴(분석순), 초산(분석순), 이수소린산칼리움(분석순), 린산(85%), 수소린산나트리움(분석순)을, 기구로는 고속액체크로마토그래프분석기(《Agilent 1220》)를 리용하였다.

찔광이의 HPLC지문그림분석을 위한 시료용액과 HPLC분리조건은 봉우리수를 기준으로 하여 선정하였다. 여러 지역에서 채취한 찔광이에 대한 HPLC그림으로부터 공유봉우리를 선택(이때 상대유지시간은 3%, 상대봉우리면적은 1%이상)한데 기초하여 대조지문그림을 작성하여 상사도를 평가하였다.

추출용매선택 추출은 환류추출방법으로 하였으며 추출용매로는 농도가 각각 95, 70%인 에틸알콜과 1% 초산-메틸알콜을 리용하였다.

HPLC조건은 다음과 같다.

분리탑 Thermo C18(4.6mm×250mm, 5 μ m), 이동상 아세토니트릴-0.3% 린산용액(구배용출, 0min에서 6 : 94, 60min에서 24 : 76), 검출과장 250nm, 이동상류속 1.0mL/min, 탑온도 30℃, 시료주입량 20 μ L.

분석결과 검출된 봉우리수는 95% 에틸알콜에서 14개, 70% 에틸알콜에서 9개, 1% 초산-메틸알콜에서 11개로서 95% 에틸알콜로 추출한 시료용액의 봉우리수가 제일 많다. 이로부터 찔광이의 HPLC지문그림분석을 위한 시료의 추출용매로는 95% 에틸알콜을 선택하였다.

추출시간선택 우에서와 같은 조건에서 추출용매로 95% 에틸알콜을 리용하여 각이한 시간 동안 추출하면서 찔광이의 HPLC지문그림분석을 위한 합리적인 추출시간을 검토하였다. 결과 3h동안 추출한 시료용액의 봉우리수는 14개로서 1h 또는 2h동안 추출한 시료용액에 비하여 더 많으며 4h동안 추출한 시료용액에서는 봉우리수가 더 증가하지 않았다. 이로부터 찔광이의 HPLC지문그림분석을 위한 시료의 추출시간은 3h정도이면 충분하다는것을 알수 있다.

HPLC분리조건검토 찔광이의 지문그림분석을 위한 HPLC분리조건을 최적화하기 위하여 분리탑을 Thermo C18(4.6mm×250mm, 5 μ m)로, 시료주입량을 20 μ L로 고정하고 이동상과 검출과장, 이동상류속, 탑온도를 검토하였다. 결과 이동상으로 아세토니트릴-0.3% 린산(구배용출)을 리용할 때 봉우리수가 14개로서 최대로 되었으며 따라서 가장 합리적인

찔광이의 HPLC지문그람분석을 위한 이동상으로 아세토니트릴-0.3% 린산(구배용출)을 선택하였다.

한편 가장 합리적인 검출파장은 300nm로, 이동상의 류속은 1.0mL/min, 탑온도는 40℃로 결정하였다.

찔광이HPLC지문그람의 공유봉우리선정 찔광이의 HPLC지문그람분석방법의 검증결과는 표 1과 같다.

표 1에서 보는바와 같이 찔광이의 HPLC지문그람 분석방법을 검증한 결과 측정자료의 정밀도와 재현성, 안정성은 모두 변동계수가 3.76%이하로서 HPLC지문그람분석방법의 요구수준(5.0%)에 부합되었다.

우리는 9개의 찔광이시료들에 대한 HPLC그람을 얻고 매 시료들이 각각 7개의 공유봉우리를 가진다는것과 그중에서 1번봉우리는 우르솔산, 5번봉우리는 클로로젠산, 6번봉우리는 루틴에 해당된다는것을 확인하였다.

찔광이시료의 HPLC지문그람에서 루틴봉우리를 기준으로 한 공유봉우리들의 상대유지시간과 상대봉우리면적은 각각 표 2, 3과 같다.

표 2. 찔광이HPLC지문그람에서 공유봉우리의 상대유지시간

봉우리번호	시료번호									평균	변동계수/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
1	0.050	0.052	0.053	0.053	0.053	0.053	0.052	0.052	0.053	0.052	2.18
2	0.127	0.136	0.135	0.135	0.135	0.132	0.135	0.135	0.135	0.134	1.99
3	0.184	0.194	0.193	0.192	0.191	0.191	0.195	0.194	0.191	0.192	1.57
4	0.218	0.230	0.230	0.230	0.228	0.227	0.230	0.230	0.228	0.228	1.61
5	0.352	0.389	0.387	0.387	0.385	0.386	0.390	0.388	0.385	0.383	3.07
6	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
7	1.028	1.036	1.037	1.037	1.034	1.035	1.036	1.037	1.037	1.035	0.27

표 2에서 보는바와 같이 찔광이HPLC지문그람에서 변동계수 3.07%이하에서 상대유지시간이 일치되었다.

표 3. 찔광이HPLC지문그람에서 공유봉우리의 상대봉우리면적

봉우리번호	시료번호															평균				
	1		2		3		4		5		6		7		8		9			
1	6.279	6	4.003	7	1.141	0	12.765	1	1.344	6	2.131	2	2.311	8	3.290	8	4.117	5	4.153	9
2	3.941	2	2.392	2	0.347	1	72.663	1	3.836	7	0.265	4	2.326	5	1.789	5	2.208	3	9.974	4
3	1.859	3	1.021	2	0.862	9	3.143	3	1.807	2	0.334	6	0.475	8	0.694	8	2.273	4	1.385	8
4	1.086	6	0.240	2	0.138	6	1.520	2	0.510	2	0.200	5	0.132	4	0.213	5	1.093	5	0.570	6
5	0.031	2	0.581	3	0.849	1	1.129	1	0.507	9	0.807	3	0.699	1	1.311	0	1.101	6	0.779	7
6	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0	1.000	0
7	1.471	7	0.610	8	0.534	5	0.166	8	1.424	9	0.279	8	0.354	3	0.415	2	0.149	8	0.600	9

쥘광이의 HPLC대조지문그림작성 9개 시료들에 대한 매 봉우리들의 평균상대유지시간 으로부터 얻은 쥘광이의 HPLC대조지문그림자료는 표 4와 같다.

표 4. 쥘광이의 HPLC대조지문그림자료

특성	봉우리번호						
	1	2	3	4	5	6	7
상대유지시간	0.052	0.134	0.192	0.228	0.383	1.000	1.035
상대봉우리면적	4.153 9	9.974 4	1.385 8	0.570 6	0.779 7	1.000 0	0.600 9

루틴봉우리(6)의 유지시간 51.7min

표 4에서 보는바와 같이 쥘광이의 HPLC대조지문그림에서 7개 공유봉우리의 상대유 지시간범위는 0.052~1.035였다. 한편 상대봉우리면적은 0.570 6~9.974 4범위에 있었다.

쥘광이HPLC지문그림의 상사도[3, 4]평가 쥘광이시료에 따르는 HPLC지문그림과 대조 HPLC지문그림과의 상사도변화는 표 5와 같다.

표 5. 쥘광이시료에 따르는 HPLC지문그림과 대조HPLC지문그림과의 상사도변화

시료번호	1	2	3	4	5	6	7	8	9
상사도	0.955	0.978	0.992	0.938	0.996	0.925	0.978	0.991	0.949

표 5에서 보는바와 같이 쥘광이HPLC지문그림의 상사도는 0.92이상이다.

산쥘광이와 왕쥘광이의 감별방법 산쥘광이와 왕쥘광이의 HPLC지문그림은 그림과 같다.

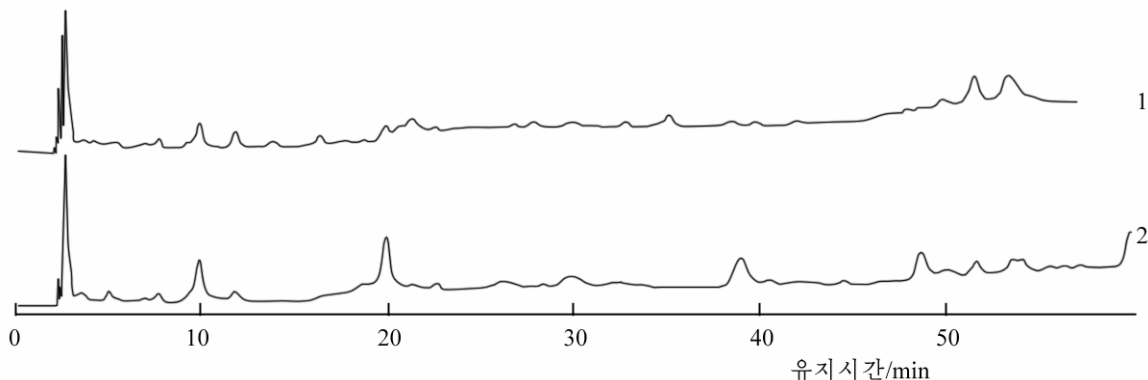


그림. 산쥘광이(1)와 왕쥘광이(2)의 HPLC지문그림

그림 2에서 보는바와 같이 산쥘광이나 왕쥘광이에도 쥘광이와 같은 7개의 공유봉우 리가 있다는것을 알수 있다. 산쥘광이에서는 35min에서 나타나는 봉우리가, 왕쥘광이에서 는 38min의 봉우리가 특징봉우리라고 볼수 있다.

맺 는 말

쥘광이의 HPLC지문그림을 작성하였다. 쥘광이의 HPLC지문그림에서 공유봉우리는 루틴, 우르솔산, 클로로겐산을 포함하여 7개였고 그것의 상사도는 0.92이상이었다.

참 고 문 헌

- [1] 문관심 등; 조선약초전서 3, 의학과학출판사, 234~236, 주체104(2015).
- [2] 조선약전위원회; 조선민주주의인민공화국약전 7, 의학과학출판사, 482~483, 주체100(2011).
- [3] X. K. Hong et al.; The Digital Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Science and Technology Publishers, 100~200, 2003.
- [4] 刘朝榮 等; 色谱, 21, 6, 395, 2003.

주체107(2018)년 10월 5일 원고접수

On Making HPLC Fingerprint and Differentiation of the Fruit of *Crataegus pinnatifida* Bge.

Mun Chung Saeng, Pak Chol Sun

We made the HPLC Fingerprint of the fruit of *Crataegus pinnatifida* Bge.. The HPLC Fingerprint of the fruit of *Crataegus pinnatifida* Bge. has seven common pikes including rutin, ursolic acid and chlorogenic acid and the similarity to the control HPLC Fingerprint is more than 0.92.

Key words : *Crataegus pinnatifida* Bge., HPLC Fingerprint