

화장품중 생약성분의 분석 ( I )

욕제중의 당귀 및 천궁추출액의 함량분석

이 보 섭, 김 진 우

(태평양화학 기술연구소)

Analysis of Medicinal Plants in Cosmetics( I )

Determination of Korean Angelica Extract and Cnidium Rhizome  
Extract in bath Essence

Lee Bo-Seub, Kim Jin-Woo

(Pacific Chemical R & D Center)

ABSTRACT

Angelica gigas extract and Cnidium officinale extract in Bath essence were determined by high performance liquid chromatography with a UV detector by use of Bondapak C-18 column.

Decursin and Ligustilide were used as indicator ingredient for analysis of Angelica gigas extract and Cnidium officinale extract.

Each indicator ingredient was isolated from each plant and purified using silver-nitrate treated silica column.

Their structure were conformed with IR, NMR and HPLC.

The recoveries of Angelica gigas extract and Cnidium officinale extract added to Bath essence sample were 96.5-109.5% and 112-115%

# I. 서론

최근 사람들은 환경공해 및 합성화학 약품의 약해에 대한 반동으로 자연지향적인 풍조가 널리 유행하게 됨에 따라 한약방 및 건강식품등에 많은 관심을 갖게 되었다. 화장품도 이러한 천연물 지향의 풍조에 따라 약용성분을 갖는 생약 및 식물추출물을 배합하는 경우가 점차 증가되고 있다.

그러나 생약물질은 원 식물의 기원, 산지, 재배방법 및 추출방법에 따라 유효성분의 함량이 현저하게 달라지므로 단지 유효성분만의 분석으로 화장품중에 배합된 생약물질의 함량을 정하기에는 어려움이 있다.

지금까지 화장품에 배합되는 생약물질에 관한 분석<sup>(1-11)</sup>은 알로에, 감초, 인삼, 자근, 당약, 키나, 카모마일, 길초근, 고추, 헨나등이 발표되었다.

당귀<sup>(12-16)</sup> 및 천궁<sup>(15-17)</sup>의 성분분석은 되어 있으나 화장품중에 배합된 당귀 및 천궁의 함량분석에 관한 보문은 발표되지 않았다. 그리하여 저자는 고속액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 당귀 성분<sup>(19)</sup>중 Decurisin과 천궁 성분<sup>(19)</sup>중 Ligustilide를 지표성분으로 정하여 화장품중에 배합된 당귀 및 천궁의 함량을 분석하였다.

# II. 실험방법

## 1. 시료

1-1. 당귀 추출액 : 경동 약재시장에서 구입한 건조 참당귀 *Angelica gigas* Nakai (미나라과 Umbelliferae) 조말 1kg을 30v/v% 에탄올 5.0 l를 넣어 실온에서 10일간 침적하여 여과분리한 다음 냉암소(0°C)에서 7일간 정치한 후 여과하여 30% 에탄올로 용량을 조정하여 5.0 l로 한다.

1-2. 천궁추출액 : 경동 약재시장에서 구입한 건조된 천궁 *Cnidium officinale*(미나라과 Umbelliferae)조말 1kg을 40v/v% 에탄올 5.0 l를 넣어 당귀추출액과 동일한 방법으로 제조한다.

### 1-3. 제품

일반적인 액제의 제조방법에 따라 당귀추출액 50.0 g, 천궁추출액 50.0 g, 모노라우린산 폴리옥시에칠렌소르비탄 100.0 g, 물 및 글리세린을 넣어 1kg으로 한다. 이때 당귀추출액은 30% 에탄올, 천궁추출액은 40% 에탄올 추출액을 배합한다.

## 2. 시약 및 기구

### 2-1. Decursin 표준품

건조된 참당귀 조말 500 g 을 취하여 에틸 약 1.5 l 를 넣은 후 실온에서 24시간 방치한 후 감압여과한다. 다시 잔사에 에틸 1 l 를 가하여 24시간 방치한 후 감압여과한다. 여액을 합하여 감압하에서 에칠에틸을 날려보낸다. 얻어진 황갈색의 점성액을 소량의 용매(노말헥산:초산에칠=3:1)에 용해시킨 후 칼럼 크로마토그래피(고정상:Aluminium oxide, Type 507, Neutral, Fluka, 용매; 노말헥산:초산에칠=3:1, 칼럼의 크기:3.5×40cm)를 행하여 용출액을 fraction collector에 받는다. 용출액을 자외선등(254nm)으로 조사하여 청색의 형광을 나타내는 부분을 취하여 용매를 감압여과하여 황색의 점성액을 얻는다. 이액을 클로로포름 소량에 녹인후 다시 칼럼 크로마토그래피(고정상:질산은으로 처리된 Kieselgel 60, Art 7734, 70-230mesh, Merck, 용매:클로로포름, 칼럼의 크기:3.5×40cm)를 행하여 fraction collector에 받는다. 이 용출액을 자외선등으로 조사하여 가장 청색 형광이 강한 부분을 취하여 용매를 감압유거하여 담황색의 점성액을 얻는다. 점성액을 적당량의 클로로포름에 용해시킨후 용액이 혼탁되지 않을 때까지 노말헥산을 넣어 흔들어준 후 냉온에서 2-3일 방치하여 얻어지는 백색의 분말상 결정을 여취한 후 다시 클로로포름, 헥산으로 재결정하여 decursin의 표준품을 얻는다.

### 2-2. Ligustilide 표준품

건조된 천궁 조말 700 g 을 취하여 에틸 1.5 l 를 넣은 후 실온에서 약 4시간 교반하면서 추출한다. 여과한 후 얻어진 잔사에 다시 에틸 1 l 를 넣은 후 같은 방법으로 추출하여 여과한다. 여액을 감압증류하여 용매를 유거한다. 얻어진 황갈색의 점성액을 감압증류(bp 125-135°C, 2mmHg)하여 황색의 투명한 점성액을 얻는다. 이액을 노말헥산:에칠에틸=20:1 혼합용매 소량으로 용해시킨후 칼럼 크로마토그래피(고정상:Kieselgel 60, Art 7734, 70-230mesh, Merck, 용매;노말헥산:에틸=20:1, 칼럼의 크기 3.5×40cm)를 행하여 fraction collector에 분취한다. 자외선등(254nm)을 조사하여 첫번째 형광부분을 취하여 용매를 감압증류하여 무색의 점성액인 ligustilide를 얻는다.

### 2-3. 시약

본 실험에서 사용된 Ethanol, Chloroform, n-hexane, Ethylacetate, Silver nitrate등은 시약 1급(Junsei)을 사용하였다.

## 3. 시험용액의 조제

### 3-1. 당귀 및 천궁추출액

시료 20.0 g 을 분액여두에 취해 에틸 30ml씩으로 3회 추출하고 추출액을 여

과(동양여지 No. 2)한 후 감압농축기에서 용매를 유거한 후 잔분에 에탄올을 넣어 녹여 정확히 20ml로 하여 검액으로 한다.

따로 Decursin 및 Ligustilide 표준품을 각각 10mg 및 7mg을 정확히 달아 에탄올을 넣어 녹여 20ml로 하여 표준액으로 한다.

### 3-2. 제품

시료 200g을 분액여두에 취해 에틸 100ml씩으로 3회 추출한다. 추출액을 여과(동양여지 No. 2)한 후 감압농축하여 농축액에 에탄올을 넣어 녹여 정확히 20ml로 하여 검액으로 한다.

따로 Decursin 표준품 5.0mg, Ligustilide 표준품 4.0mg에 에탄올을 넣어 녹여 20ml로 한 액을 표준액으로 한다.

## 4. 정량

검액 및 표준액을 다음 조건하에서 HPLC에 주입하여 동일 보지시간에 얻어지는 피크의 면적을 구한다.

칼럼 : Radialpak  $\mu$ -Bondapak C-18

검출기 : UV검출기(280nm)

이동상 : 메탄올:물 = (70:30) 또는 (60:40)

유속 : 20ml/min

## Ⅲ. 결과 및 고찰

### 1. Decursin 및 Ligustilide 표준품의 제조

생약추출물의 분석에 있어서의 애로점은 다성분의 분리도 문제지만 지표성분의 입수나 분리정제가 어렵다는 것이다.

본 실험에서는 Decursin 및 Ligustilide 표준품을 생약으로부터 직접 추출하여 사용하였다.

Decursin 표준품 제조방법은 류경수등<sup>(12)</sup>의 방법으로 칼럼 크로마토그래피를 이용했으나 재결정화가 잘되지 않아 질산은처리 실리카젤칼럼으로 분리하였다. Ligustilide 표준품 제조방법은 山岸등<sup>(14)</sup>의 방법을 응용하여 제조하였다. 표준품의 확인은 IR(Fig. 1,2) 및 NMR(Fig. 3,4)로 확인하였으며 순도는 HPLC로 분석하여 크로마토그램에서 Single peak로 얻어짐으로써 확인하였다. Decursin은 상온에서 안정하나 Ligustilide는 매우 불안정하므로 질소충진하여 냉암소에서 보관하여야 한다.

## 2. 추출액중의 Decursin 및 Ligustilide의 정량

당귀의 성분은 decursin, decursinol, nodakenetin, umbelliferae, nodakenin, imperatorin 등이 함유되어 있으나 그중 decursin을 지표성분으로 하였다. 천궁성분은 ligustilide, cnidlide, neocnidlide, butylphthalide 등이 알려져 있으며 그중 Ligustilide 정량법은 GC<sup>(15)</sup> 방법이 있으나 성분중 Ligustilide와 Cnidlide의 분리가 좋지 않았다.

당귀 및 천궁의 지표성분인 Decursin 및 Ligustilide를 HPLC로 분석하였다. HPLC에서 Retention time을 줄이기 위하여 이동상의 메탄올과 물의 비율을 70:30으로 하고 면적적분계에서 얻어진 표준품의 면적에 따라 함량을 결정하였다. 실험값은 검액 및 표준액을 3회 실험하여 평균값을 얻었다. 실험에서 얻어진 크로마토그램은 Fig. 5, 6에 나타내었으며 당 실험결과 당귀 추출액중의 Decursin의 함량은 0.50mg/ml이고 천궁추출액중의 Ligustilide 함량은 0.04mg/ml를 얻었다.

## 3. 제품중의 당귀 및 천궁추출액의 정량

제품중에 사용된 당귀추출액 및 천궁추출액의 함량을 각 지표성분인 Decursin 및 Ligustilide로 동시에 분석하였다. 이때 성분들의 중첩을 방지하기 위하여 이동상의 조성을 에탄올:물=60:40으로 조정하였다. 표준액을 2회, 검액을 3회 실험하여 얻어진 크로마토그램의 피크면적에 따라 정량하였다. 그 결과는 Table I, II와 같다.

Table I. 제품중 Decursin 함량

실험횟수	Decursin 함유량(mg)	실측치(mg)	회수율(%)
1회	5.0	4.83	96.5
2회	5.0	5.35	107.0
3회	5.0	5.45	109.0

Table II. 제품중 Ligustilide 함량

실험횟수	Ligustilide 함유량(mg)	실측치(mg)	회수율(%)
1회	3.5	3.92	112.1
2회	3.5	4.48	128.1
3회	3.5	4.02	115

실험결과 당귀추출액은 배합량의 96.5-109.0%가 측정되었고 천궁추출액은 112.8-128.1%의 결과를 얻었다. 회수율은 천궁추출액이 당귀추출액보다 양호하지 못하였다. 그 원인은 HPLC 크로마토그램(Fig.7)에서 Ligustilide가 앞의 성분과 약간 중

침되는 때문이라 생각된다. 또한 위에서 얻은 결과를 보면 Decursin 및 Ligustilide 함량을 측정함으로써 당귀 및 천궁의 배합량도 알 수 있는 것이다.

#### IV. 결 론

육제중에 배합된 당귀추출액 및 천궁추출액의 함량을 HPLC를 이용하여 동시에 분석하였다. 이때 당귀추출액의 지표성분은 Decursin, 천궁추출액의 지표성분은 Ligustilide로 정하고 지표성분은 직접 추출 정제하여 순도를 확인하여 사용하였다. 실험결과 제품에 사용된 당귀추출액의 회수율은 96.5-109.0%, 천궁추출액의 회수율은 112-115%의 결과를 얻었다. 또한 본 실험방법은 화장품의 품질관리뿐만 아니라 식품이나 의약품에도 응용이 가능하리라 생각된다.

#### 참 고 문 헌

- 1) Y. Ishii, et al., Chem. Pharm. Bull., 32, 4946(1984)
- 2) H. Nakamura, et al., EISEI KAGAKU 35(3), 219(1989)
- 3) 日本藥學會 第104年 公衆衛生協議會資料, 23(1984)
- 4) M. Vanhaelen, et al., J. Chromatogr., 312, 497(1984)
- 5) 浜野等, 東京衛生年報, 33, 95(1982)
- 6) I. Sakamoto, et al., J. Chromatogr., 295, 276(1984)
- 7) CT. A. Chung, et al., J. Chromatogr., 295, 276(1984)
- 8) D. Fransesco, et al., Ann. Chim., 74, 117(1984)
- 9) C. Violon, et al., J. Chromatogr., 288, 474(1984)
- 10) P.G Hoffmann, et al., J. Agric. Food Chem., 31, 1326(1983)
- 11) M. Naito, et al., Fragrance Journal 臨時增刊 No 6, 201(1986)
- 12) 류경수, 육창수 藥學會誌 11, 22(1967)
- 13) 지형준 " 13, 46(1967)
- 14) 山岸喬等, 北海道立 衛生研究年報, 24, 47(1974)
- 15) 西本和光, 현대 東洋醫學, 2, 55(1981)
- 16) 국립보건원, 의약품 기준 및 시험방법 [추보2] (1987)
- 17) 山岸喬等, 藥誌, 97, 237(1977)
- 18) H Hitsuhashi, et al., Tetrahedron 20(1971)
- 19) 衛生學研究會, 현대 生藥學, 韓國學習教材社(1985)

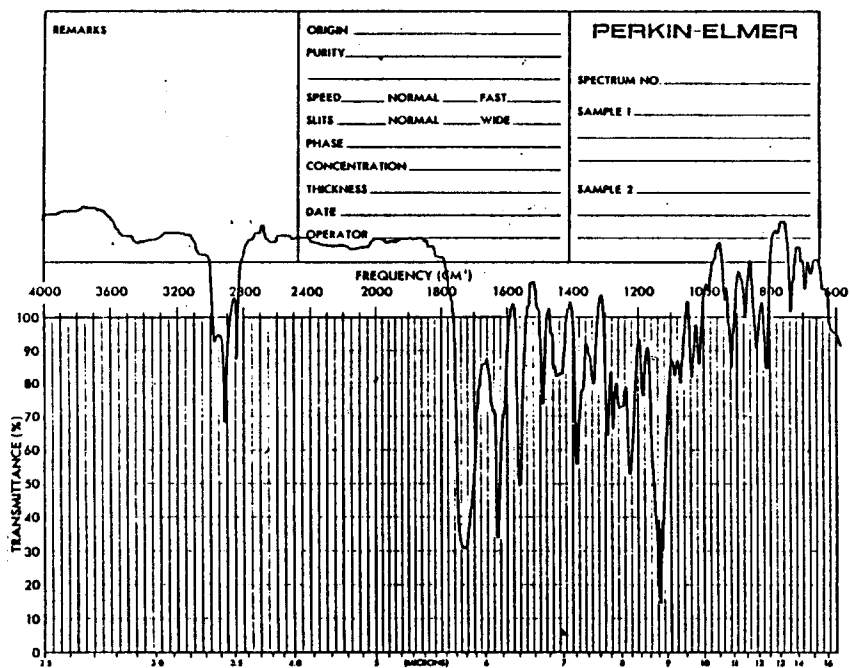


Fig. 1 I.R. Spectrum of Decursin

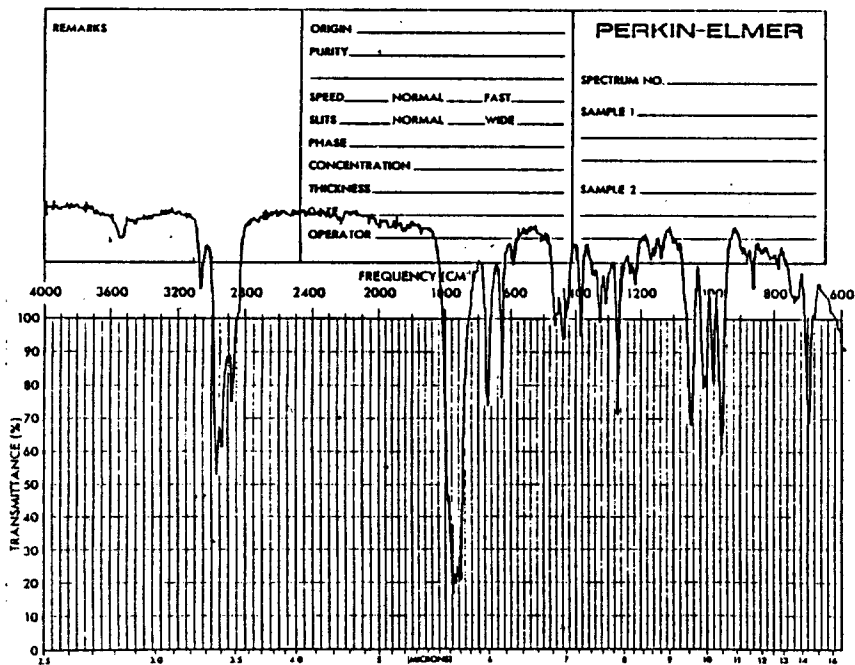


Fig. 2 I.R. Spectrum of Ligustilide

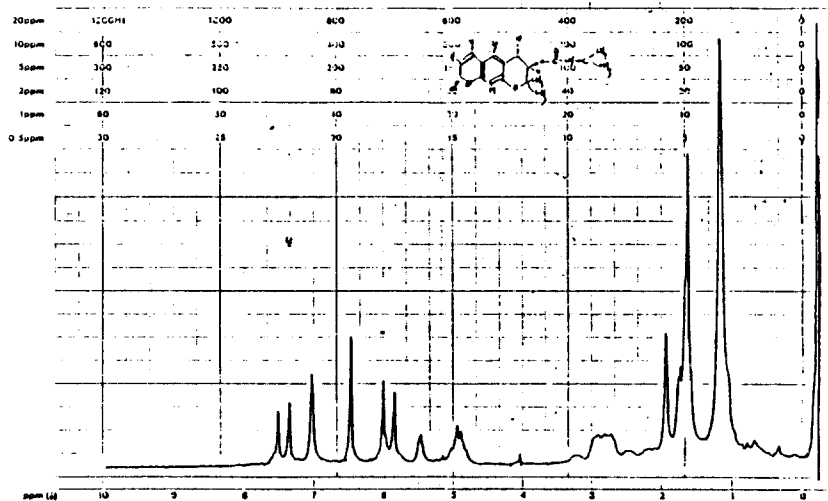


Fig. 3 NMR Spectrum of Decursin

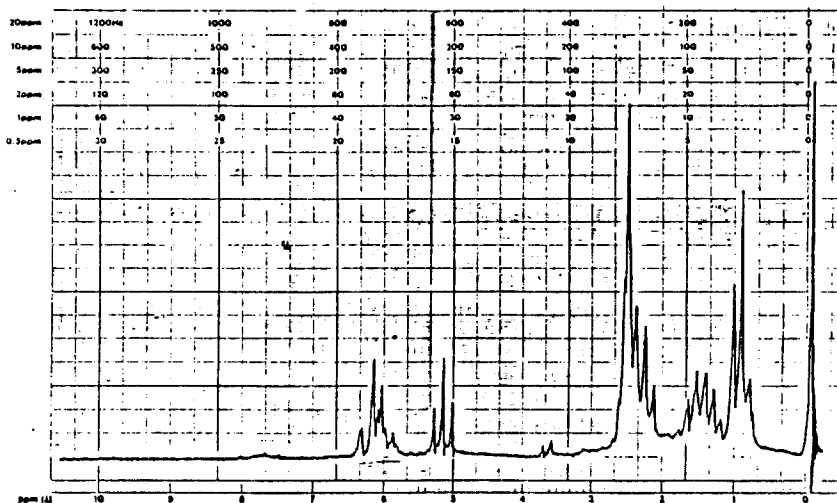


Fig. 4 NMR Spectrum of Ligustilide



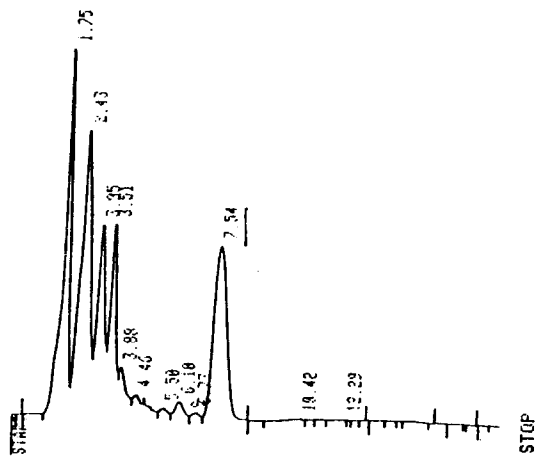


Fig. 5 HPLC Chromatogram of *Angelica gigas* extract

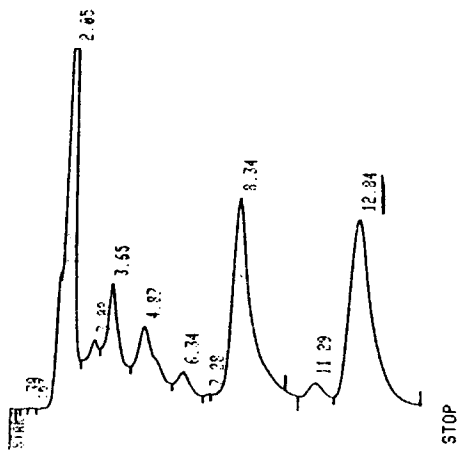


Fig. 6 HPLC Chromatogram of *Cnidium officinale* extract

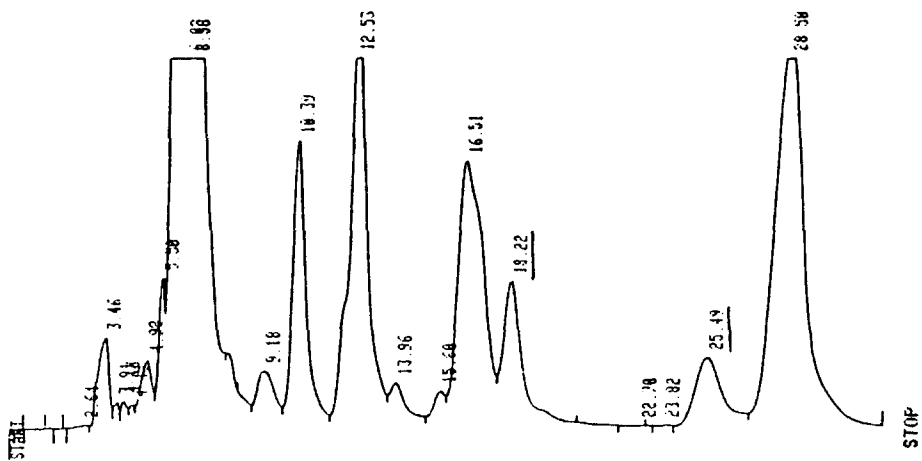


Fig.7 HPLC Chromatogram of Sample

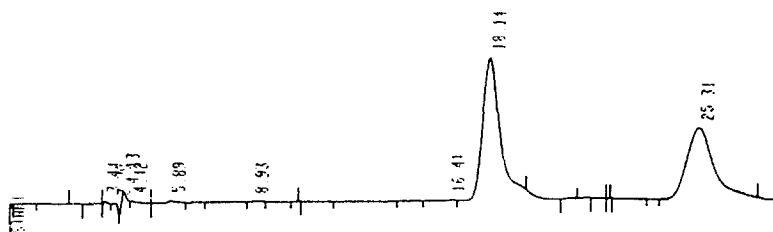


Fig.8 HPLC Chromatogram of Ligustilide and Decrsin