

화장품중 생약성분의 분석(Ⅱ)

화장비누중의 쑥추출액의 함량분석

임호빈, 최상원, 김진우

(태평양화학 기술연구소)

Analysis of Medicinal Plants in Cosmetics(Ⅱ)

The HPLC Separation and Quantitation of Artemisia Extract in
Cosmetic SOAP

Lim Ho—Bin, Choi Sang—Won, Kim Jin—woo

(Pacific Chemical R & D Center)

ABSTRACT

A method was described for the analysis of Artemisia extract in cosmetic soap. Esculetin—6—methylether was used as indicator ingredient for analysis of Artemisia extract. It was isolated from the plant and purified with silicagel column. The structure was conformed with IR, NMR and MASS spectroscopy.

The Artemisia extract in sample was isolated with chloroform and interfering compounds were eliminated with silicagel column.

The Artemisia extract was determined by reverse phase high—performance liquid chromatography with a fluorescence detector and a solvent system of H₂O/THF/MeOH.

The recorveries of Artemisia extract were 93.9—106.1% in the cosmetic soap.

I. 서론

쑥(*Artemisia*)은 국화과(*compositae*)에 속하는 다년생 식물로 구미, 아시아등 세계 여러지역에서 재배되고 있고, 그 중 또한 다양하며 예로부터 이뇨, 정혈, 해독, 소염, 조압, 진정 및 강정작용을 지니고 있어 의약뿐만 아니라 피부미용 및 건강식품으로서도 널리 이용되고 있다.⁽¹⁻⁵⁾

지금까지 국내외에서 쑥의 종류별 성분, 특성 및 그 약리작용에 관한 연구가 많이 수행되어 왔으나⁽⁷⁻¹⁴⁾제품중에 배합된 쑥추출물의 함량분석은 미량분석의 어려움으로 아직 시도되지 않았다. 그리하여 저자는 쑥의 Cumarin유도체⁽⁷⁻¹⁴⁾중 *esculetin-6-methylether*^(7,8,13)를 지표성분으로 정하여 화장품비누중에 배합된 쑥추출물의 함량을 분석하였다.

II. 실험방법

1. 시료

1.1 쑥추출액 : 사철쑥 *Artemisia Capillaris* Thunb 및 더위지기쑥 *Artemisia iwayomogi* Kitamura(국화과 *compositae*)의 건조지상부 10kg에 50V/V%에탄올 100ℓ를 넣어 가열, 추출하여 여과한 후 여액을 감압농축하여 약 30ℓ로 하고 농축액에 50V/V% 프로필렌글리콜 6.0ℓ를 넣어 혼화한 후 여과하여 제조한다.

1-2. 제품

일반적인 화장품비누의 제조방법에 따라 비누에 쑥추출액 0.2%를 배합한다.

2. 시약 및 기구

2-1. *Esculetin-6-methylether* 표준품

쑥(건조지상부, 100g)을 메탄올로 실온에서 침적, 추출하여 얻은 총추출액에 acetone을 가하여 침전물을 제거한 후 농축한다.

농축액에 다시 메탄올을 넣어 녹이고 여기에 hexane을 가하여 정유와 엽록소를 제거한 하층부를 얻는다.^(7,8) 이 분획을 하루 방치하여 침전하는 crude결정과 mother liquor를 얻는다. mother liquor를 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=100:1$ 을 용출용매로 하는 실리카겔 컬럼 크로마토그래피⁽¹¹⁾를 행하여 얻은 용출액을 n-hexane에서 재결정하여 무색 침상결정

을 얻는다.^(7,8)

2.2 시약

본 실험에 사용된 EtOH, MeOH, n-Hexane, CHCl₃ 등은 시약 1급을 사용하였다.

2.3 장치

- HPLC : Waters, M-420AC 형광검출기
- 형광분광광도계 : Hitachi 204-S
- 원심분리기 : Hitachi 20PR-520
- 적외선 분광광도계 : Nicolet 20SXC

3. 시험용액의 조제

3-1. 쑥추출액

시료 10.0g을 분액여두에 취해 CHCl₃:MeOH=3:1혼액 40ml로 진탕하여 추출한다. CHCl₃층(하층)에 무수황산나트륨 소량을 넣어 방치한 후 여과한다. 감압하에서 용매를 유거한 후 잔분에 무수에탄올을 넣어 녹여 정확히 5ml로 하여 원액으로 한다. 원액 1ml를 취해 무수에탄올을 넣어 정확히 100ml로 하여 검액으로 한다. 따로 esculetin-6-methylether 표준품 10mg을 정확히 달아 무수에탄올을 넣어 녹여 100ml로 하여 표준원액으로 한다. 표준원액 0.5, 1, 2ml를 각각 정확히 취해 무수에탄올을 넣어 정확히 100ml로 하여 표준액으로 한다.

(각각의 농도는 0.5, 1, 2 μg/ml)

3.2 제품

시료 50g을 세절하여 건조시킨 후 CHCl₃ 250ml에 넣어 녹여 원심분리(5000rpm/30min)를 2회 반복한다. 얻어진 CHCl₃층을 여과(동양여지 No.2)한 후 감압농축한다. 농축액에 CHCl₃를 소량 가해 실리카겔 컬럼크로마토그래피(Kieselgel 60, 70-230mesh, Merck, 용매 : 1. CHCl₃ 2. CHCl₃:MeOH=(10:1), 컬럼의 크기 : 2.5×40cm)를 행하여 CHCl₃:MeOH혼액에 용리되는 fraction중 자외선동(366nm)을 조사할 때 황색띠를 나타내는 부분을 분취한다. 감압건고하여 얻은 잔분에 무수에탄올을 가해 정확히 5ml로 만든 후 원심분리(3000rpm/10min)하여 상등액을 검액으로 한다.

4. 정량

검액 및 표준액을 다음 조건하에서 HPLC에 주입하여 동일 보지시간에 얻어지는

피크의 면적을 구한다
 컬럼 ; Lichrosorb RP-18
 검출기 ; 형광검출기(M-420AC, Waters)

Excitation filter : 360nm

Emission filter : 425nm

Lamp : F4T5D

이동상 ; Water : THF : Methanol=17:2:1

유속 ; 1.5ml/min

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. Esculetin-6-methylether 표준품 제조

표준품의 제조는 한덕용등의 방법^(7,8,11)을 응용한 컬럼크로마토그래피로 분리하였다. 컬럼크로마토그래피중 용매는 CHCl₃:MeOH=100:1혼액을 사용했으며 elution하여 얻은 용출액을 농축할때 생성되는 결정을 재결정하여 무색침상의 결정을 얻었다. 표준품의 확인 및 순도는 IR(Fig 1), NMR(Fig 2), MASS(Fig 3)로 확인했으며 m.p.는 205°였다.

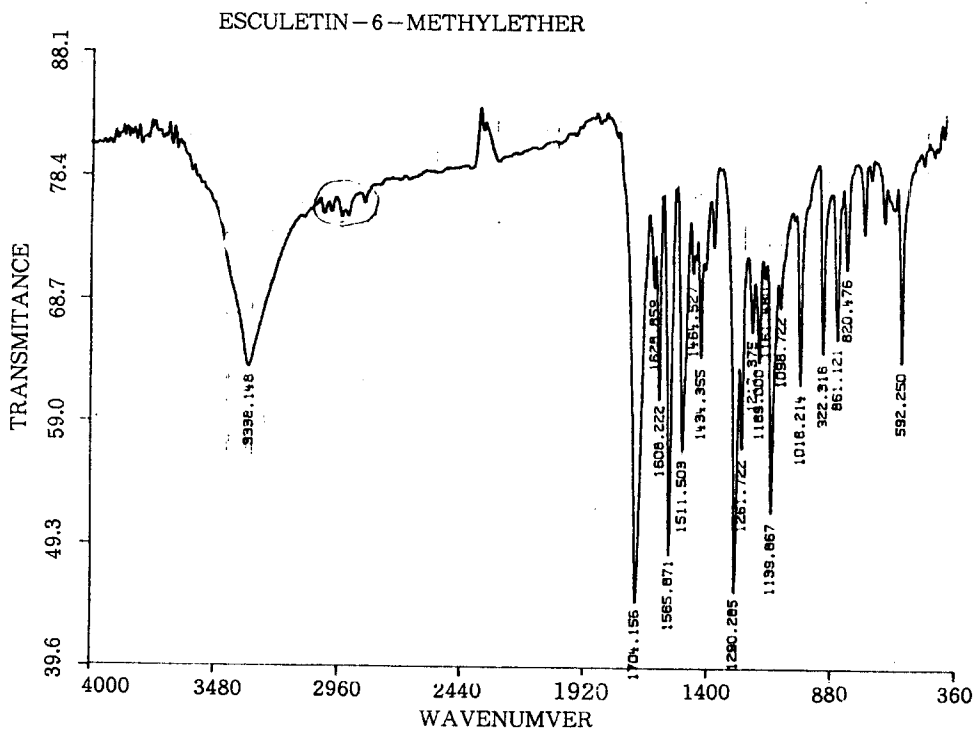


Fig 1. IR absorption spectrum of Esculetin-6-methylether

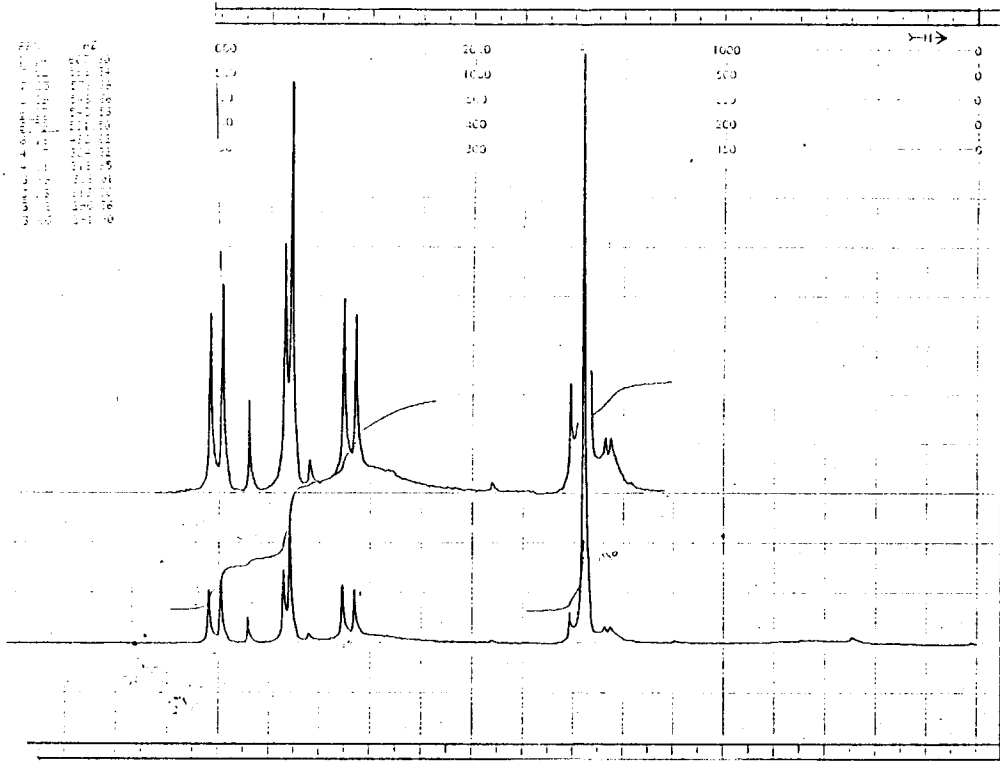


Fig 2. NMR spectrum of Esculetin-6-methylether

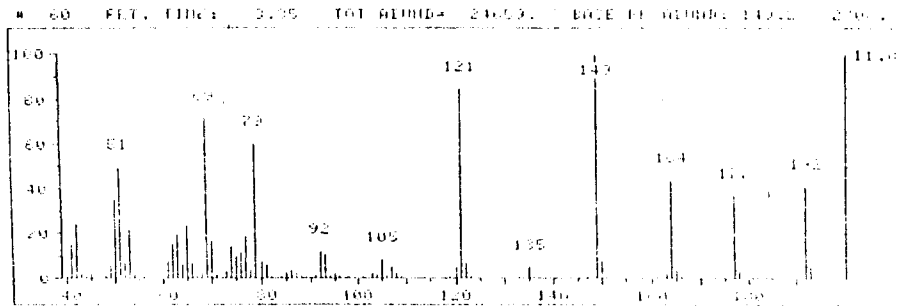


Fig 3. MASS spectrum of Esculetin-6-methylether

2. 싱추출액중의 esculetin-6-methylether의 정량

형광분광광도계를 사용하여 esculetin-6-methylether 표준액의 Excitation wavelength 와 Emission wavelength를 찾아 HPLC 형광검출기 조건을 설정한다. 측정결과 Excitation wavelength : 350nm, emission wavelength : 420nm였다. 추출액중의

Esculetin-6-methylether의 정량은 HPLC에서 면적적분계로부터 얻어진 표준품의 면적에 따라 검량선을 작성하여 함량을 결정하였다. 실험값은 검액 및 표준액을 각각 3회 시험하여 평균값을 얻었다. 실험에서 얻어진 크로마토그램(Fig.4)과 쑥추출액중의 esculetin-6-methylether 함량은 $41\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 정량되었다.

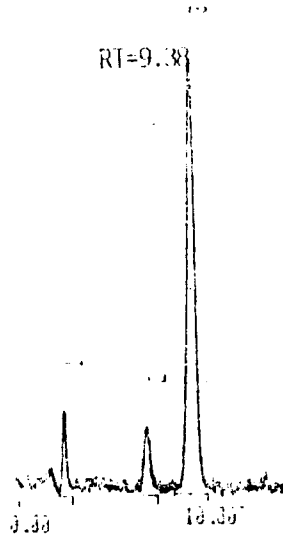


Fig.4 HPLC Chromatogram of Artemisia extract

3. 제품중의 쑥추출물의 정량

제품중에 사용된 쑥추출액의 함량은 지표성분인 esculetin-6-methylether로 분석하였다. 표준액과 검액을 3회 실험하여 얻어진 크로마토그램(Fig 5)의 피크면적에 따라 정량하였다. 그결과는 Table 1 과 같다.

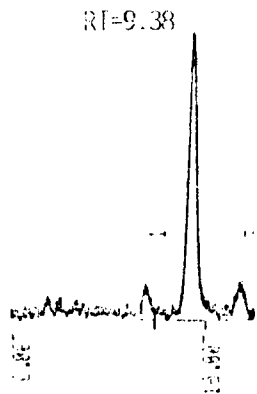


Fig 5. HPLC Chromatogram of sample

Table 1. 제품중의 esuletin-6-methylether 함량

실험회수	esuletin-6-methylether($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	실측치($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	회수율(%)
1	0.082	0.077	93.9
2	0.082	0.079	96.3
3	0.082	0.087	106.1

실험결과 쑥추출액의 회수율은 배합량의 93.9-106.1%였다.

IV. 결론

화장비누에 배합된 쑥추출물의 함량은 HPLC 형광검출기를 이용하여 정량하였다. 이때 쑥추출액중의 지표성분은 esuletin-6-methylether로 정하고 지표성분은 직접 추출 정제하여 순도를 확인하여 사용하였다. 실험결과 제품에 사용된 쑥추출액의 회수율은 93.9-106.1%의 결과를 얻었다. 또한 본 실험방법은 화장비누뿐만 아니라 화장품, 식품, 의약품 등의 품질관리에도 응용이 가능하리라 생각된다.

참고문헌

1. 相賀徹夫, 중약대사전 6(1), 234-238, (東京), (1985)
2. 이창복, 대한식물도감, 향문사 751-762(1982)
3. 육창수, 원색한국약용식물도감 512-527(1989)
4. 생약학연구회, 현대생약집, 170(1985)
5. 柴田承二의 4人, 藥用天然物質, 254-260(1982)
6. 한약연구소위원회, 한약학, 142(1986)
7. 한덕용, 약학회지, 10, 20-24(1966)
8. 한덕용, 약학회지, 10, 25-29(1966)
9. T.Komiya, M. Tsukui and H.Oshio, 약학잡지, 96(7), 841-854(1976)
10. S.Matsued, M.Napaki, Sci. Rep. Hirosaki univ. 27, 17-23(1980)
11. J.Yamahara, H.Matsuda, T.Sawada, H.Mibu and H.Fujimara, 약학잡지, 102(3) 283-291(1982)
12. J.Okuno, K.Kagawa, Y.Noro and T.Nanoba, 생약학잡지 37(3), 199-203(1983)
13. R.O.H.Murray, J.of natural products, 49(3), 550-551(1986)
14. 한용남, 양현목, 한병훈, 약학회지 28(2), 69-77(1984)