

## 국산과 중국산 형개의 Pulegone 함량분석

김호경 · 이아영 · 이혜원 · 천진미 · 최지현 · 신자원<sup>1</sup> · 고병섭\*  
한국한의학연구원 검사사업부, <sup>1</sup>충북전통의약 산업센터 연구개발실 제재개발팀

### Quantitative Analysis of Pulegone in *Schizonepeta tenuifolia* Briq.

Kim Ho-Kyoung, Lee A-Yeong, Lee Hye-Won, Chun Jin-Mi,  
Choi Ji-Hyun, Shin Ja-Won<sup>1</sup> and Ko Byoung-Seob\*

Department of Quality Control of Herbal Medicine, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea  
<sup>1</sup>R&D Team, ChungBuk Oriental Medicine Center, ChungBuk 390-220, Korea

Received December 1, 2005; Accepted March 24, 2006

*Schizonepeta tenuifolia* Briq. are used in folk medicine as common cold, sore throat, headache and skin infection in Korea, China and Japan. To compare the contents of domestic and Chinese *schizonepeta tenuifolia* quantitative HPLC analysis was performed using a Luna C<sub>18</sub> column (4.6 × 250 mm, 5 μm), with 1 ml/min of flow rate of 0.01% formic acid in water : acetonitrile = 50 : 50 under UV 254 nm of detector. Pulegone was detected at retention time of about 17.14 min.

**Key words:** *Schizonepeta tenuifolia* Briq., pulegone, HPLC method

#### 서 론

꿀풀과(Labiatae)에 속하는 1년생 초본인 형개는 *Schizonepeta tenuifolia* Briq.로써<sup>1)</sup> 중국에서는 전초를 약용부위로 사용하며 줄기에 대생한 잎을 가지는 것도 있다. 줄기는 방추형이며 자갈색을 띠고 잎은 선상 또는 좁은 피침형이며 때로는 떨어져 있다. 꽃대는 길이 5~10 cm이고 작은 순형화와 열매를 가지는 꽃받침 통이 붙어 있는 것도 있다. 확대경으로 보면 이 약의 전주(全株)에 유백색의 짧은 털을 볼 수 있고 특이한 냄새가 있으며 입속에 넣으면 약간 시원한 느낌이 있다<sup>2)</sup>. 우리나라 각지에서 재배하고 있으며, 중국의 주산지는 하남, 허북, 산둥 등이며 대부분 재배한다<sup>3)</sup>.

한방에서는 형개의 지상부를 감기의 발열, 인후종통, 마진, 산후의 증풍 및 대하증 등의 치료제<sup>4)</sup>, 지혈제<sup>5)</sup>로 사용하여 왔으며, 마우스에서 항혈소판 응집작용<sup>6,7)</sup>이 있고, 쥐에서 면역글로블린에 의한 생체 방어작용<sup>8)</sup>이 밝혀져 있다.

형개의 주요 성분으로는 정유 및 flavonoid 등이 알려져 있으며 정유는 *d*-menthone, *l*-pulegone을 주성분으로 하고, *l*-isomenthone, *d*-limonene, isopluegone, piperitenone 등의 monnterpene과 caryophyllene, β-elemene, β-humulene 등의 sesquiterpene, 3-octanone, 3-octanol, 1-octun-3-ol 등으로 조성되어 있다. 그 외 shizonepetoside A, B 등의 monoterpene

glycoside<sup>9)</sup>, eicosane acid, β-sitosterol, oleanolic acid, ursolic acid, daucosterol<sup>10)</sup>이 보고된 바 있다.

형개의 정유성분을 GC/MS로 분석한 연구는 일부 보고되어 있으나<sup>11-13)</sup>, HPLC를 이용하여 성분을 분석한 연구는 보고되어 있지 않아, 본 연구에서는 국산과 중국산 형개의 주 성분으로 보고된 pulegone을 HPLC법으로 정량하는 방법을 정립하고 중국산과 국내산 형개의 함량 비교 및 이화학적 품질 평가를 실시하여 규격기준을 제시하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

**실험 재료.** 본 실험에 사용된 형개(荊芥, *Schizonepeta tenuifolia* Briq.)는 우석대학교 본초학교실에서 수집한 5종, 대전대학교 본초학교실에서 수집한 4종 및 유통품 6종을 국산 10종과 중국산 5종으로 구분하여 수집하였고, 우석대학교 주영승 교수, 대전대학교 서영배 교수의 감정을 받은 후에 분쇄하여 사용하였다.

**시약 및 기기.** 함량시험에 사용된 표준물질 R-(+)-pulegone는 Wako사 제품을 사용하였고, 추출 및 HPLC에 사용된 용매는 J. T. Baker(USA)사 제품을 사용하였다. HPLC 분석에 사용된 기기들은 SCL-10Avp system controller, SIL-10ADvp Auto injector, SPD-10Avp liquid chromatograph, SPD-10Avp UV-VIS detector 모두 Shimadzu(Japan)사의 제품을 사용하였다. HPLC-MS 분석에 사용된 기기는 Agilent 1100 Series binary pump, Agilent 1100 Series vacuum degasser, Agilent 1100 Series thermostated column compartment, Agilent 1100 Series

\*Corresponding author  
Phone: 82-42-868-9542; Fax: 82-42-863-9434  
E-mail: bsko@kiom.re.kr

standard autosampler, Agilent 1100 Series variable wavelength detector, Bruker사의 esquire 4000을 사용하였다. 이화학실험에 사용된 시약은 (주)대정화학의 특급시약을 사용한다.

**건조감량 시험<sup>1)</sup>**. 무게를 단 칭량병에 시료 약 3.0 g을 넣어 무게를 정밀하게 측정하여 105°C에서 6시간 건조하고, 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 항량이 되었을 때의 감량을 건조감량(%)으로 하였다.

**회분 시험<sup>1)</sup>**. 사기 도가니를 550°C에서 미리 1시간 강열하여 데시케이터에서 방냉한 후 그 무게를 정밀히 달았다. 시료 약 3 g을 사기도가니에 넣어 무게를 정밀하게 측정한 후 회화로에 넣어 서서히 온도를 올리면서 550°C에서 4시간 이상 가열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하여 데시케이터에서 방냉한 다음 항량이 될 때까지 회화한 후 무게를 정밀하게 측정하여 회분량(%)으로 하였다.

**산불용성회분 시험<sup>1)</sup>**. 회분에 묽은 염산 25 m/를 천천히 조심스럽게 넣고 5분간 약한 열로 끓여 불용물을 정량용 여과지로 여과하여 잔류물을 열탕으로 잘 씻어 여과지와 함께 건조한 다음 회분항과 같은 방법으로 3시간 강열하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 질량을 정밀하게 측정하여 산불용성회분량(%)으로 하였다.

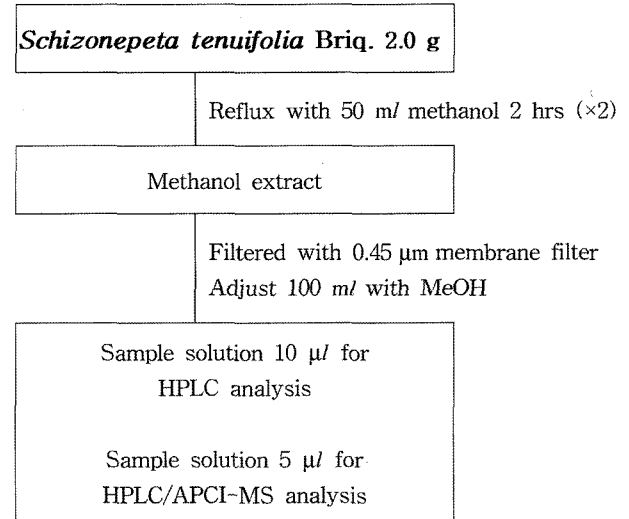
**묽은에탄올엑스 함량 시험<sup>1)</sup>**. 시료 약 2.3 g을 정밀하게 달아 플라스크에 넣고 묽은에탄올 70 m/를 넣어 때때로 흔들어 섞어 5시간 침출하였다. 다시 16-20시간 방치한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 m/로 될 때까지 묽은에탄올로 씻은 다음 여액 50 m/를 수욕에서 증발건조하고 105°C에서 4시간 건조하여 데시케이터(실리카겔)에서 식힌 다음 그 질량을 정밀하게 달고 2를 곱하여 묽은 에탄올엑스의 양으로 하였다. 건조감량에서 얻은 값에서 건조물로 환산한 검체량에 대한 묽은에탄올엑스 함량(%)을 산출하였다.

**표준액의 조제**. 형개의 표준물질인 R-(+)-pulegon 1.41 mg을 10 ml의 methanol에 녹이고 이것을 stock solution으로 하여 141.0 µg/ml, 70.6 µg/ml, 35.3 µg/ml, 17.6 µg/ml로 단계적으로 희석하여 검액을 만들어 검량용 표준용액으로 사용하였다. 각각의 표준용액 10 µ/를 HPLC로 분석하여 chromatogram의 면적을 구하고 이들의 면적과 표준용액의 농도를 변수로 한 검량선을 작성하여 함량을 계산하였다.

**검액의 조제**. 형개 2.0 g을 정확히 평량하여 methanol 50 m/를 가해 2시간씩 두 번 환류추출 여과하고 여과액에 methanol을 가하여 정확히 100 m/로 맞춘 후 0.45 µm syringe filter로 여과한 여액을 검액으로 사용하였다. 각각의 검액을 10 µ/씩 3회 반복하여 HPLC 및 HPLC-MS 분석 후 함량을 계산하였다 (Scheme 1).

**기기분석조건**. HPLC는 shimadzu LC-10Avp system을 사용하였고 UV detector의 측정파장은 254 nm, 컬럼은 Luna C<sub>18</sub> (4.6×250 nm, 5 µm, Phenomenex)을 사용하였다. 분석용매 조건은 0.01% formic acid in water:ACN = 50:50(v/v)로 사용하였고, 유속속도는 1.0 ml/min, 주입량은 10 µ/로 조작하여 HPLC 함량 분석을 실시하였다.

HPLC-MS는 Agilent 1100 series를 사용하였고 UV detector의 측정파장은 245 nm, 컬럼은 Zorbax eclipse XDB-C<sub>18</sub>(4.6×



Scheme 1. Preparation of test materials for quantitative analysis of R-(+)-pulegone in *Schizonepeta tenuifolia* Briq.

150 nm, 5 µm, Agilent)을 사용하였으며 이동상으로는 0.1% formic acid in water : 메탄올 = 50 : 50(v/v)의 비율이 되도록 하였다. 유속은 0.5 ml/min, 주입량은 5 µ/로 조작하였고, APCI-MS는 Bruker사의 esquire 4000을 사용하여 350°C에서 이온화하여 분석물질의 분자량을 확인하였다.

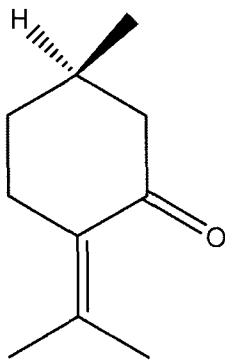
### 결과 및 고찰

본 연구는 한방에서 지상부를 감기의 발열, 인후종통, 마진, 산후의 중풍 및 대하증, 지혈 등의 치료제로 사용되는 한국산 형개 중에 포함되어 있는 R-(+)-pulegone 함량과 건조감량, 회분, 산불용성회분, 묽은에탄올 엑스함량(Table 1) 등 이화학적 분석을 실시하여 중국산 형개와 비교 하여 형개의 규격기준 제시를 위한 기초 데이터를 확립하고자 하였다. 한편 형개 중 휘발성 물질을 GC/MS로 확인한 연구 결과들은 보고된 바 있으나, 주 성분인 R-(+)-pulegone(Fig. 1)을 HPLC로 분석한 방법은 보고되어 있지 않았으므로 본 연구를 실시하였다. 이와 더불어 정확한 분석을 위하여 HPLC-MS를 사용하여 분석물질의 분자량을 확인하였다.

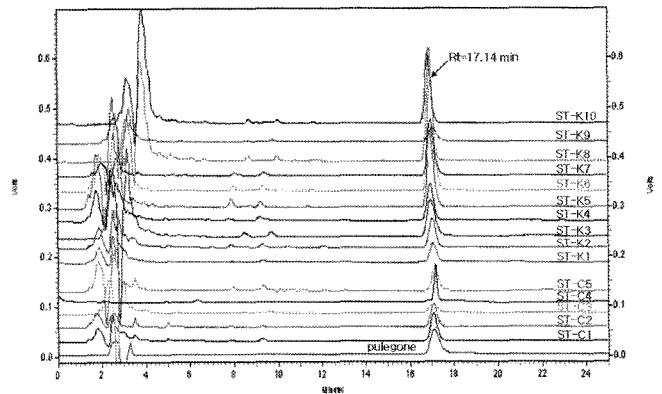
함량 분석을 위하여 형개의 주 성분으로 알려진 R-(+)-pulegone 표준품을 구입하여 C<sub>18</sub>을 이용한 HPLC법으로 정량분석을 작성하였다. 이때 회귀직선 방정식은 y = 23078x + 39014 이고 상관계수는 0.999로 1.00에 접근하여 이를 이용하여 형개에 함유된 R-(+)-pulegone의 함량을 분석하였다. HPLC 함량분석 결과 전반적인 패턴(Fig. 2)은 차이가 없었고, R-(+)-pulegone은 머무름 시간 17.14분대에서 검출되었다. HPLC-MS로 분석한 결과 국산과 중국산 형개의 R-(+)-pulegone은 표준품과 같은 17.34분대에서 검출되었다(Fig. 3). 17.34분대 peak의 분자량은 positive mode에서 APCI 방법으로 분석한 결과 152.9를 나타내었고 fragment 값은 135.9, 109.9를 나타내어 같은 물질임을 확인하였다(Fig. 3). 함량은 국산이 평균 0.29%(± 0.241)로 시료에 따라 0.04-0.70%의 함량을 나타내었으며, 중

**Table 1. The Content of R-(+)-pulegone, loss on drying, ash, acid-insoluble ash, dilute ethanol-soluble extract of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. (ST) (Unit: %)**

	Area	R-(+)-Pulegone	loss on drying	Ash	Acid-insoluble ash	dilute ethanol-soluble extract
ST-K1	Korea	0.04	11.51	4.23	0.38	7.22
ST-K2	Korea	0.04	10.90	5.23	0.67	7.71
ST-K3	Korea	0.10	11.65	8.18	0.76	11.49
ST-K4	Korea	0.08	18.97	7.43	0.63	7.66
ST-K5	Korea	0.34	7.23	5.75	0.44	10.43
ST-K6	Korea	0.55	13.30	5.10	0.43	9.26
ST-K7	Korea	0.70	12.83	7.47	2.49	8.96
ST-K8	Korea	0.53	17.20	5.39	0.76	8.87
ST-K9	Korea	0.15	15.13	6.34	0.45	13.20
ST-K10	Korea	0.33	26.07	5.01	0.40	9.12
Average (± S. D.)		0.29±0.241	14.48±5.256	6.01±1.292	0.74±0.633	9.39±1.860
ST-C1	China	0.04	9.52	6.17	0.57	8.18
ST-C2	China	0.05	11.50	5.77	1.45	8.93
ST-C3	China	0.07	12.86	8.42	3.28	5.82
ST-C4	China	0.20	10.75	16.79	9.76	12.41
ST-C5	China	0.07	13.91	4.19	0.61	4.43
Average (± S. D.)		0.082±0.062	11.71±1.729	8.27±5.000	3.13±3.863	7.89±3.127



**Fig. 1. Chemical structure of R-(+)-pulegone.**



**Fig. 2. HPLC chromatography of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. according to the collected site.**

국산이 평균 0.08%(±0.062)로 시료에 따라 0.04~0.20%의 함량을 나타내었다. 이는 중국약전에 명시된 pulegone 0.02% 이상을 모두 만족시킨 값으로, 함량 설정 시 pulegone(C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O, 152.23) 0.02% 이상으로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다.

품질관리를 위한 기준 설정을 위하여 이화학 규격 실험도 병행한 결과는 다음과 같다.

건조감량은 국산이 평균 14.48%(±5.256)로 시료에 따라 7.23~26.07%를 나타내었고, 중국산은 평균 11.71%(±1.729)로 시료에 따라 9.52~13.91%를 나타내어 공정서에 미수재된 건조감량에 대해서 기준치를 20.0% 이하로 설정하는 것이 타당하다고 사료된다.

회분함량은 대한약전에 11.0% 이하로 규정되어 있으며 본 실험결과 국산은 평균 6.01%(±1.292)로 시료에 따라 4.23~8.18%를 나타내어 10개의 시료 모두 기준에 적합하였고, 중국산은 평균 8.27%(±5.000)로 시료에 따라 4.19~16.79%를 나타내어 1품목을 제외하고는 4개의 시료 모두 11.0% 이하로 측정되었

으므로 대한약전 규정인 형개의 회분함량 기준은 11.0% 이하로 설정하는 것이 타당함을 재확인하였다.

산불용성회분함량은 대한약전에 3.0% 이하로 규정되어 있으며 본 실험결과 국산은 평균 0.74%(±0.633)로 시료에 따라 0.38~2.49%로 모두 대한약전기준에 적합하였고 중국산은 평균 3.13%(±3.863)로 시료에 따라 0.57~9.76%로 2품목이 기준치를 초과하여 수입되는 형개의 품질관리를 철저히 하여야 할 필요가 있는 것으로 판단되었다.

물-에탄올엑스함량은 대한약전에 8.0% 이상으로 규정되어 있으며 본 실험 결과 국산은 평균 9.39%(±1.860)로 시료에 따라 7.22~13.20%로 3품목이 기준치에 미달되었고 중국산은 평균 7.89%(±3.127)로 시료에 따라 4.43~12.41%로 2품목이 기준치에 미달되어 휘발성 물질이 주성분인 형개는 보관 및 유통상의 품질관리를 철저히 실시하여야 할 것으로 사료된다.

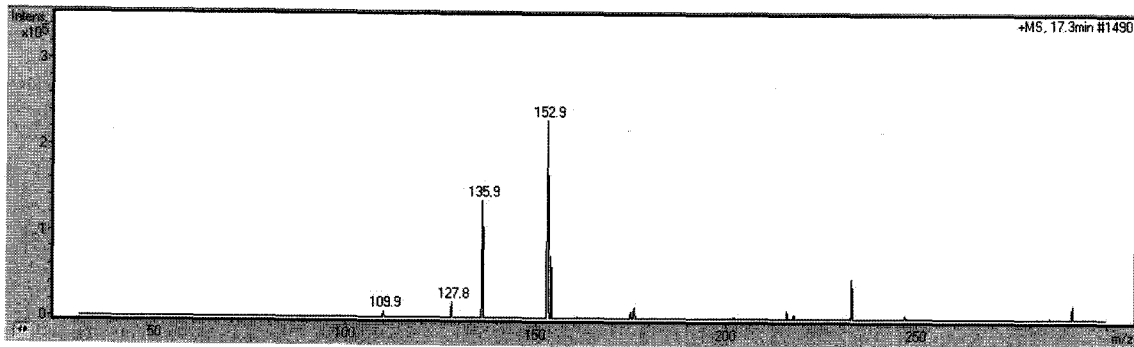


Fig. 3. APCI-MS spectrum of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. according to the collected site.

## 사 사

본 연구는 보건복지부에서 지원한 2004년도 한약연구의 일환으로 수행된 『표준한약연구』 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. The hygienic process against association (2002) In *the Korean Pharmacopoeia* (8th ed.), Medical Index Press, Seoul.
2. Association of phytology professor (2004) In *Phytology*, Younglim Press, Seoul.
3. Fujita, S. and Fujita, Y. (1973) Miscellaneous contributions to the essential oils of plants from various territories. XXXII. On the components of the essential oils of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. (author's transl), *Yakugaku Zasshi* **93**, 1622-1626.
4. Fung, D. and Lau, C. B. (2002) *Schizonepeta tenuifolia* - chemistry, pharmacology, and clinical applications, *J. Clin. Pharmacol.* **43**, 30-36.
5. Ding, A. W. (1986) Hemostatic effect of *Schizonepeta tenuifolia* before and after carboization, *Zhong Tao Tong Bao* **11**, 23-25.
6. Yoon, S. S. (1996) Studies on the constituents of *Schizonepeta tenuifolia* showing antiplatelet activity, MS.D. Thesis. Chonnam University, Gwangju.
7. Ding X. and Ding A. (1997) Studies on the effective constituents of arresting bleeding of *Schizonepeta tenuifolia*, *Zhong Yao Cai* **20**, 81-83
8. Shin, T. Y., Jeong, H. J., Hun, S. M., Chae H. J., Kim, H. R., Baek S. H. and Kim, H. M (1999) Effect of *Schizonepeta tenuifolia* extract on mast cell-mediated immediate-type hypersensitivity in rats, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **21**, 705-715.
9. Lee, S. B., Sung, C. K., Sung, B. R. and Jung, D. H. (1993) Variation of Essential oil Components in Stages and Organs of *Schizonepeta tenuifolia* Briquet. *Korean J. Crop. Sci.* **38**, 55-59.
10. Zhang L., Feng Y. and Ding A. (2001) The research on the chemical components of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. *Zhong Yao Cai* **24**, 183-184.
11. Lin, R., Tian, J., Huang, G., Li, T. and Li, F. (2002) Analysis of menthol in three traditional Chinese medicinal herbs and their compound formulation by GC-MS Biomed. *Chromatogr.* **16**, 229-33.
12. Ye, D. J. (1985) Components of essential oils from different parts and the charcoal of *Schizonepeta tenuifolia*. *Zhong Tao Tong Bao* **10**, 19-21.
13. Fujita S. and Morishita, T. (1987) Miscellaneous contribution to the essential oils of plants from various territories. XLVIII. A biochemical study of the essential oils of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. *Yakugaku Zasshi* **107**, 959-963.