

# 생약의 시험분석 사례집



**KFDA**  식 약 청  
식 품 의 약 품 안 전 평 가 원

# 생약의 시험분석 사례집





## 머리말



생약은 대한약전 규격에 따라 품질관리를 수행하고 있습니다. 생약은 다양한 성분을 함유하고 있으며, 생약의 확인시험 및 함량 분석에서는 동시에 여러 성분을 분석할 수 있는 시험법을 개발하는 추세입니다.

이에 식품의약품안전평가원은 생약의 확인 및 함량 분석에 대한 사례를 공유하고자 「생약의 시험분석 사례집」을 발간하게 되었습니다. 대한약전에 수재된 품목을 중심으로 다성분 동시분석을 하는 품목과 다른 품목에 비해 분석하는 방법이 까다로운 경우를 대상으로 선정하였습니다.

각 시험분석 사례에는 각 품목에 대한 확인 및 함량 분석시에 참고할 수 있는 크로마토그램을 수재하였고 분석 성분에 대한 구조식 등의 정보를 기술하였습니다. 또한, 기원식물이 2가지인 경우에는 각 기원식물에 대한 사례를 함께 수재하였습니다.

# Korea Food & Drug Administration



더불어 TLC와 LC 분석 및 시스템적합성에 대한 일반적인 정보를 수록하여 분석에 대한 이해를 돕고자 하였습니다.

아무쪼록 이 사례집이 수입한약재 품질검사기관, 한약규격품 제조업소 및 관련 업계에서 생약의 품질관리를 위한 분석업무의 효율성을 높이는 데 도움이 될 수 있기를 바랍니다.

2011년 11월

식품의약품안전평가원

평가원장 김 승 희



# CONTENTS

Ⅰ. 일러두기	05
Ⅱ. 분석 일반정보	06
Ⅲ. 분석 사례	11
1. 구기자	11
2. 고삼	14
3. 당귀	18
4. 도인	22
5. 백지	26
6. 산수유	30
7. 오미자	33
8. 작약	37
9. 지실	40
10. 진피	43
Ⅳ. 참고문헌	46

# I. 일러두기

1. 「생약의 시험분석 사례집」에는 분석 일반정보와 생약의 확인 및 함량 분석에 대한 크로마토그램을 포함하고 있다.
    - 수재 품목 : 구기자, 고삼, 당귀, 도인, 백지, 산수유, 오미자, 작약, 지실, 진피
  2. 분석 일반정보에는 박층크로마토그래프법, 액체크로마토그래프법 및 시스템 적합성에 대하여 기술하였다.
  3. 분석사례에는 각 품목별 기원식물, 확인시험 사례, 함량분석 사례 및 성분 구조를 포함한 분석 정보를 수재하였다.
  4. 이 사례집에 수재한 크로마토그램은 현재 대한약전에 수재되어 있는 실험방법을 기본으로 하였으며, 일부 변경된 방법으로 실험한 경우 주석을 달아 놓았다.
  5. 생약의 기원식물이 2가지 이상인 경우 기원별로 크로마토그램을 수재하였다.
    - TLC의 기원 및 산지별 패턴은 「대조생약 품목별 안내서」<sup>1)</sup>를 통해서도 확인 가능하다.
    - 산지별 함량 분석 패턴을 확인하기 위하여 연구결과보고서를 참고로 크로마토그램을 수재하였다<sup>2)</sup>.
  6. 분석 정보에는 주요 성분에 대한 구조식을 제시하였으며, 대한약전 등에 규격으로 제시하지 않은 성분에 대해서도 연구결과보고서와 문헌 등을 참고하여 성분 정보를 기술하였다.
- ※ 본 사례집에 수재된 크로마토그램 결과는 각 회사 혹은 연구실에서 보유하고 있는 컬럼이나 기기 등의 분석 조건에 따라 달라질 수 있음을 유의하시기 바랍니다.

1) 대조생약 품목별 안내서 : 2011년 식품의약품안전청 평가원 발간

2) 이 경우의 분석조건은 공정서와 다를 수 있으며, 해당 보고서를 통해 확인 가능

## Ⅱ. 분석 일반정보

### 확인시험

확인시험의 TLC 시험법은 KP 9 일반시험법 중 박층크로마토그래프법을 따른다.

#### 박층크로마토그래프법

[대한약전 제9개정 일반시험법]

박층크로마토그래프법은 적당한 고정상으로 만든 박층을 써서 혼합물을 이동상으로 전개하여 각각의 성분으로 분리하는 방법이며 물질의 확인 또는 순도시험 등에 쓴다.

**박층판의 조제** 보통 다음 방법에 따른다.

5 cm x 20 cm 또는 20 cm x 20 cm의 평활하고 두께가 고른 유리판을 써서 그 한 면에 의약품각조에서 규정하는 고정상 고체의 가루를 물에 현탁한 액을 적당한 기구를 써서 0.2 ~ 0.3 mm의 두께로 고르게 도포한다. 바람에 말린 다음 105~120°C 사이의 일정한 온도에서 30~60분간 가열건조하여 박층판을 만든다. 유리판 대신 적당한 플라스틱판을 쓸 수 있다. 박층판은 습기를 피하여 보존한다.

**조 작 법** 따로 규정이 없는 한 다음 방법에 따른다.

박층판의 아래끝에서 약 20 mm 높이의 위치를 원선으로 하고 좌우 양측에서 적어도 10 mm를 띄어서 원선 위에 의약품각조에서 규정하는 양의 검액 및 표준액을 마이크로피펫 등을 써서 약 10 mm 이상의 적당한 간격으로 지름 2~6 mm의 원형으로 점적하고 바람에 말린다. 다음에 따로 규정이 없는 한 미리 전개조의 안쪽 벽을 따라 여지를 두르고 여지를 전개용매로 적시고 다시 전개용매를 약 10 mm의 깊이로 넣어 전개조를 밀폐하여 상온에서 약 1 시간 방치하고 여기에 박층판을 기벽에 닿지 않도록 넣고 전개조를 밀폐하여 상온에서 전개한다. 전개용매의 선단이 원선으로부터 의약품각조에서 규정하는 거리까지 전개하였을 때 박층판을 꺼내어 곧 용매의 선단 위치를 표시하고 바람에 말린 다음 의약품각조에서 규정하는 방법에 따라 검액 및 표준액의 각 반점의 R<sub>f</sub> 값, 색 등을 비교한다. 다음 식에 따라 R<sub>f</sub> 값을 구한다.

$R_f = \text{원선에서 반점의 중심까지의 거리} / \text{원선에서 용매선단까지의 거리}$

## 정량법

정량법의 LC 분석은 KP 9개정 일반시험법 중 액체크로마토그래프법을 따른다.

### 액체크로마토그래프법

[대한약전 제9개정 일반시험법]

액체크로마토그래프법은 적당한 고정상을 써서 만든 칼럼에 검체혼합물을 주입하고 이동상으로 액체를 써서 고정상에 대한 유지력의 차를 이용하여 각각의 성분으로 분리하여 분석하는 방법이다. 액상검체 또는 용액으로 만들 수 있는 검체에 적용할 수 있으며, 물질의 확인, 순도시험, 정량 등에 쓴다. 칼럼에 주입된 혼합물은 각 성분이 고유한 비율  $k$ 로 이동상 및 고정상에 분포한다.

$$k = \frac{\text{고정상에 존재하는 양}}{\text{이동상에 존재하는 양}}$$

이 비율  $k$ 는 액체크로마토그래프법에서는 질량분포비  $K'$ 로 부른다. 이 비율  $k$ , 이동상의 칼럼통과시간  $t_0$  ( $k = 0$ 인 물질을 주입한 때부터 그 물질의 피크정점까지의 시간) 및 유지시간  $t_R$  (피검검체를 주입한 때부터 피검물질의 피크정점까지의 시간)과의 사이에는 다음과 같은 관계가 있으므로 같은 조건인 경우 유지시간은 물질의 고유한 값이 된다.

$$t_R = (1 + k) t_0$$

### 장 치

보통 이동상송액용펌프, 검체도입장치, 칼럼, 검출기 및 기록장치로 되어 있다. 필요하면 이동상조성제어장치, 칼럼항온조, 반응시약송액용펌프, 화학반응조 등을 쓴다. 펌프는 칼럼 및 연결튜브로 이동상 및 반응시약을 일정한 유량으로 보낼 수 있는 것도 있다. 검체도입장치는 일정한 양의 검체를 정확하고 재현성이 좋게 장치에 도입하는 것이다. 칼럼은 일정한 크기의 액체크로마토그래프용충전제를 안쪽 면이 평활하고 불활성인 금속 등의 관에 고르게 충전한 것이다. 또한 충전제 대신 고정상을 관벽에 유지시킨 것을 쓸 수 있다. 검출기는 피검물질의 이동상과는 다른 성질을 검출하는 것으로 자외가시부흡광광도계, 형광광도계, 시차굴절계, 전기화학검출기, 화학발광검출기, 전기전도도검출기, 질량분석계 등이 있고 보통 수  $\mu\text{g}$  이하의 검체에 대하여 농도에 비례하는 신호를 낸다. 기록장치는 검출기에 의하여 얻어진 신호의



강도를 기록하는 것이다. 필요하다면 기록장치로서 데이터처리장치를 써서 크로마토그램, 유지 시간, 피검물질의 정량값 등을 기록 또는 출력할 수 있다. 이동상조성제어장치는 단계적 제어 (stepwise 방식)와 농도기울기제어 (gradient 방식)가 있고 이동상의 조성을 제어할 수 있다.

### 조 작 법

장치를 미리 조정한 다음 의약품각조에서 규정하는 조작조건의 검출기, 칼럼, 이동상을 써서 이동상을 규정하는 유량으로 흐르게 하고 칼럼을 규정온도로 평형이 되게 한 다음 의약품각조에서 규정하는 양의 검액 또는 표준액을 검체도입장치를 써서 검체도입부를 통하여 주입한다. 분리된 피검물질을 검출기로 검출하여 기록장치에서 크로마토그램을 얻는다. 분석되는 피검물질이 검출기에서 검출되는 데에 적합한 흡수, 형광 등의 물성을 갖지 않은 경우에는 적당하게 유도체화하여 검출한다. 유도체화는 보통 전라벨(prelabeling)법 또는 후라벨(postlabeling)법에 따른다.

### 정 량

- 1) 내부표준법 내부표준법에서 일반적으로 피검물질에 되도록 가까운 유지시간을 가지며 검체의 모든 피크와 완전하게 분리되는 안정한 물질을 내부표준물질로 선택한다. 의약품 각조에서 규정하는 내부표준물질 일정량에 피검물질표준품을 단계적 농도가 되도록 넣어 여러 개의 표준액을 만든다. 이들 표준액 일정량씩을 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크면적 또는 피크높이에 대한 피검물질표준품의 피크면적 또는 피크높이의 비를 구한다. 이 비를 세로축으로 하고 피검물질표준품의 양 또는 내부표준 물질의 양에 대한 피검물질표준품의 양의 비를 가로축으로 하여 검량선을 작성한다. 이 검량선은 보통 원점을 지나는 직선이 된다. 다음에 의약품각조에서 규정하는 방법으로 같은 양의 내부표준물질을 넣은 검액을 만들어 검량선을 작성하였을 때와 같은 조건으로 크로마토그램을 얻어 그 내부표준물질의 피크면적 또는 피크높이에 대한 피검물질의 피크면적 또는 피크높이의 비를 구하여 검량선을 써서 피검성분의 양을 구한다. 의약품각조에서는 보통 검량선이 직선이 되는 농도범위에 들어가는 한 개의 표준액 및 표준액의 농도에 가까운 농도의 검액을 만들어 의약품각조에서 규정하는 각각의 양을 주입한 다음 같은 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 피검물질의 양을 구한다. 보통 미리 표준액의 규정량을 반복 주입하여 얻은 각각의 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크면적 또는 피크높이에 대한 표준피검성분의 피크면적 또는 피크높이의 비를 구하고 상대표준편차 (변동계수)로 재현성을 확인한다.

2) 절대검량선법 피검물질표준품을 단계적 농도가 되도록 취하여 여러 개의 표준액을 만들고 표준액 일정량씩을 정확하고 재현성 있게 주입하여 크로마토그램을 얻는다. 얻어진 크로마토그램으로부터 피검물질의 피크면적 또는 피크높이를 세로축으로 하고 피검물질 표준품의 양을 가로축으로 하여 검량선을 작성한다. 이 검량선은 보통 원점을 지나는 직선이 된다. 다음에 의약품규정하는 방법으로 검액을 만들어 검량선을 작성할 때와 같은 조건으로 크로마토그램을 얻어 피검물질의 피크면적 또는 피크높이를 측정하고 검량선을 써서 피검성분의 양을 구한다. 의약품각조에서는 보통 검량선이 직선이 되는 농도범위에 들어가는 한 개의 표준액 및 표준액의 농도에 가까운 농도의 검액을 만들어 의약품 각조에서 규정하는 각각의 양을 주입한 다음 같은 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 피검물질의 양을 구한다. 이 방법은 모든 측정조작을 엄밀하게 일정한 조건으로 하여 시험한다. 보통 미리 표준액의 규정량을 반복하여 주입하여 얻은 각각의 크로마토그램으로부터 피검물질의 피크면적 또는 피크높이를 구하여 그 상대표준편차(변동계수)로 재현성을 확인한다.

**피크측정법** 기체크로마토그래프법의 피크측정법에 따른다.

## 시스템적합성

### 1. 시스템적합성의 의의

- 시스템적합성은 시험방법의 유형에 관계없이 환경 조건과 무관하게 시스템이 제대로 기능한다는 점을 확인하기 위한 것으로, 시험방법의 한 구성요소로 생각함.
- 정량시험에서는 특이성의 확인(시스템의 성능)과 재현성(시스템의 재현성)을 포함시키는 경우가 많으며,
- 시스템의 성능, 시스템의 재현성 이외에도 컬럼의 선정, 시험의 재현성 및 검출 감도 또는 이들의 조합을 시스템적합성으로 통칭

### 2. 시스템의 성능

- 시스템의 성능은 분리물질의 분리도 및 용출순서 등을 포함
- 분리도는 다음 식으로 구할 수 있으며, 피크가 완전분리한다는 것은 분리도 1.5 이상을 의미함.

$$\text{분리도 } R_s = 1.18 \times \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{0.5h1} + W_{0.5h2})}$$

$t_{R1}$ ,  $t_{R2}$  : 분리도 측정에 쓰는 두 개의 물질의 유지시간. 다만,  $t_{R1} < t_{R2}$

$W_{0.5h1}$ ,  $W_{0.5h2}$  : 각각의 피크높이의 1/2 위치에서의 피크폭

다만,  $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$  및  $W_{0.5h1}$ ,  $W_{0.5h2}$  는 같은 단위를 쓴다.

### 3. 시스템의 재현성

- 시스템의 재현성은 반복주입되는 성분의 피크면적의 상대표준편차(RSD)로 규정하며,
- 대부분의 생약 정량법의 시스템의 재현성은 각 표준액을 정량법의 분석조건으로 시험을 6회 반복할 때 각각의 물질의 피크면적의 상대표준편차를 1.5% 이하로 규정함.

## III. 분석사례

### 1. 구기자

[대한약전 제9개정 및 후보 2]

#### III 기 원

기원식물	학 명
구기자나무	<i>Lycium chinense</i> Miller
영하구기	<i>Lycium barbarum</i> Linne

#### III 확인시험

(검 액) 이 약의 가루 1 g을 달아 아세트산에틸 5 mL를 넣어 15분간 진탕하여 추출한 다음 여과하여 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel
- 전개용매 : 헥산 · 아세트산에틸혼합액(10:1)
- 발색제 : 육안으로 관찰

(TLC 패턴)



- 1 : 영하구기  
2 : 구기자나무 (대조생약)

→ 영하구기와 구기자나무 모두  $R_f$  0.6 부근에서 노란색 반점 확인  
(이 반점은 carotenoid계 색소인 Physalien에 해당하며, 구조식은 성분 정보에 기술하였음)



## 정량

### (분석조건)

검출기	자외부흡광광도계 (210 nm)
칼럼	NH <sub>2</sub> column (5 $\mu$ m, 4.6 × 250 mm)
이동상	아세토니트릴 · 물혼합액(85:15)
유량	1.0 mL/분
주입량	10 $\mu$ L

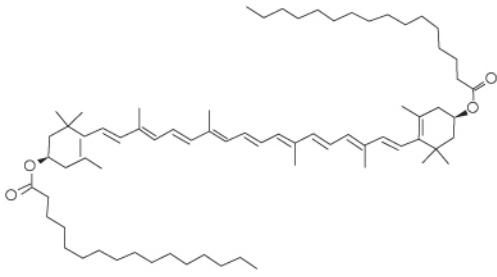
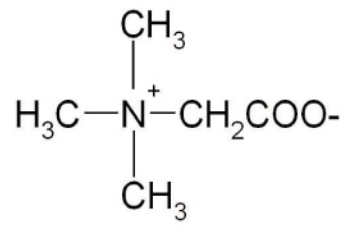
### (LC 패턴)

	크로마토그램
베타인표준액	
구기자나무 <i>Lycium chinense</i> (한국)	
영하구기 <i>Lycium barbarum</i> (중국)	

→ 베타인은 구기자나무와 영하구기에서 모두 6분대에서 관찰됨.

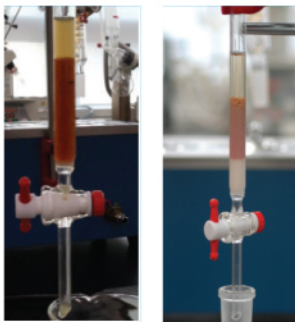
## III 분석 정보

### (성 분)

Physalien (C <sub>72</sub> H <sub>116</sub> O <sub>4</sub> )	Betaine (C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> )
	

### 특이사항

- ▶ 구기자의 정량법에서는 베타인의 특성을 이용하여 전처리 할 때에 이온교환수지를 이용하고
  - 칼럼 I : 강산성양이온교환수지 (H<sup>+</sup> 형태)
  - 칼럼 II : 약산성양이온교환수지 (H<sup>+</sup> 형태)
  - 강염기성음이온교환수지 (OH<sup>-</sup> 형태)
- ▶ 또한, LC 분석시에 아미노컬럼(NH<sub>2</sub> column) 사용에 유의



- 이온교환수지를 이용한 전처리 예시

## 2. 고삼

[대한약전 제9개정]

### 기 원

기원식물	학 명
고삼	<i>Sophora flavescens</i> Solander ex Aiton

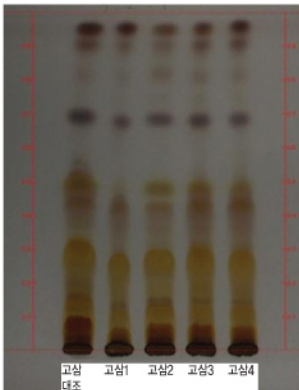
### 확인시험<sup>3)</sup>

(검 액) 이 약의 가루 1 g을 달아 메탄올 50 mL를 넣어 1시간 환류추출한 다음 여과하여 여액을 증발건고하고 잔류물에 메탄올 1 mL를 넣어 검액으로 함.

(조 작) 검액을 가지고 아래조건인 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>
- 전개용매 : 사이클로헥산 · 아세톤 · 아세트산에틸(5:2:1)
- 발색제 : 묽은황산시액 분무 (105℃ 가열)

(TLC 패턴)



1 : 고삼 대조생약

2 : 고삼 1

3 : 고삼 2

4 : 고삼 3

5 : 고삼 4

→ 고삼 대조생약 및 고삼 유통품에서 왼쪽과 같은 TLC 패턴 확인

3) KP 9에는 고삼 TLC 확인시험이 없으나 개발된 시험법을 이용한 패턴 수재

## 정량

### (분석조건)

검출기	자외부흡광광도계 (205 nm)
칼럼	C <sub>18</sub> column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)
이동상	아세토니트릴 · 인산칼륨완충액(pH 6.0) 혼합액(9:91)
유량	1.0 mL/분
주입량	5 $\mu$ L

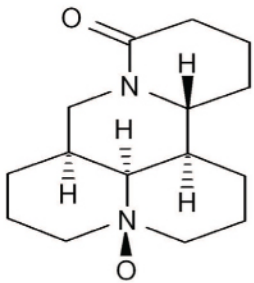
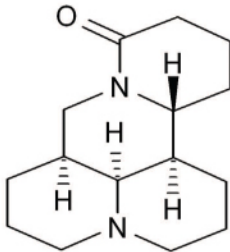
### (LC 패턴)

	크로마토그램
표준액	<p>DAD1 A, Sig=205.8 Ref=off (LSE\SOPH0019.D)</p> <p>Oxymatrine 8.675</p> <p>Matrine 14.371</p>
고삼 <i>Sophora flavescens</i>	<p>DAD1 A, Sig=205.8 Ref=off (LSE\SOPH0019.D)</p> <p>8.678</p> <p>14.360</p>



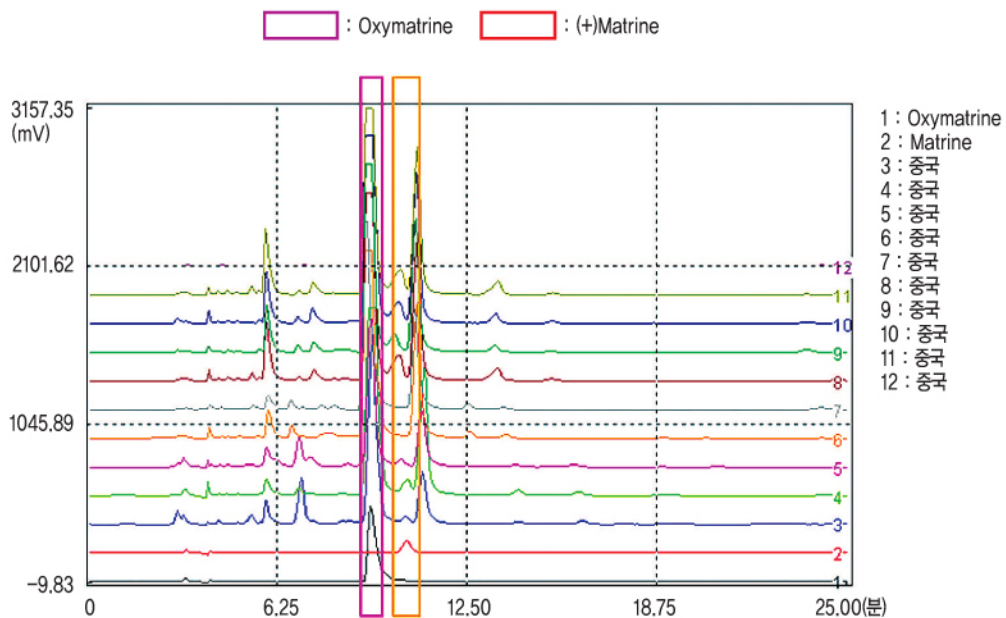
## III 분석 정보

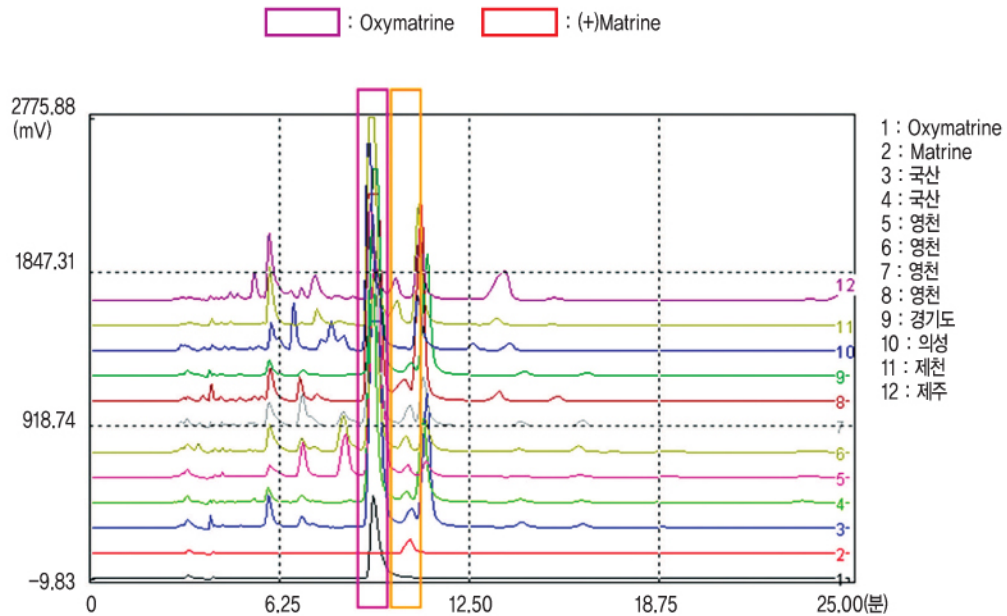
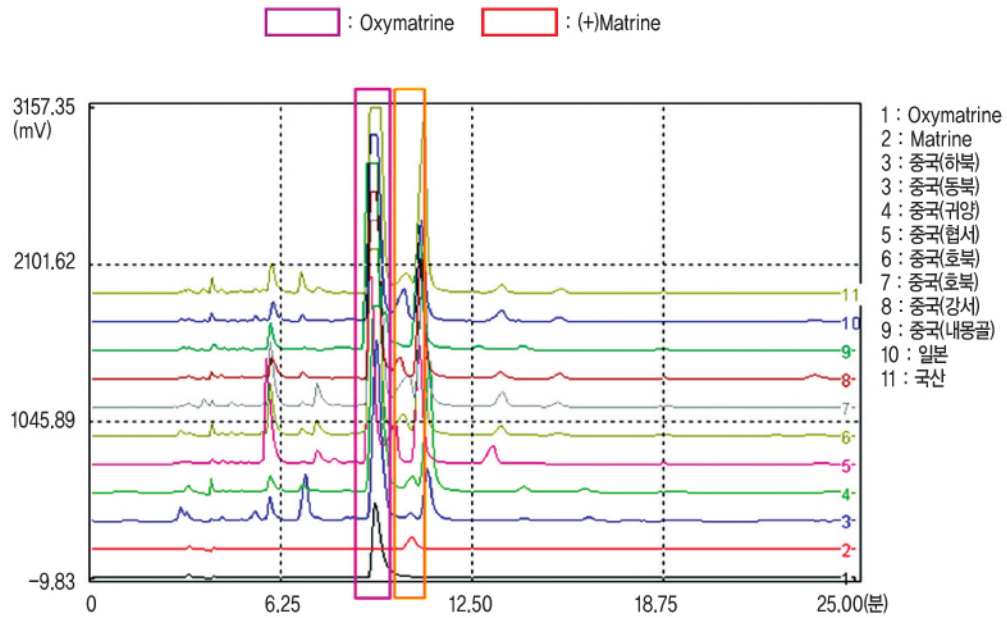
(성분)

옥시마트린 (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	마트린 (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O)
	

### 참고 고삼의 산지별 분석 패턴

[한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별), 2007 연구결과보고서]





### 3. 당귀

[대한약전 제9개정]

#### 기 원

기원식물	학 명
참당귀	<i>Angelica gigas</i> Nakai

#### 확인시험

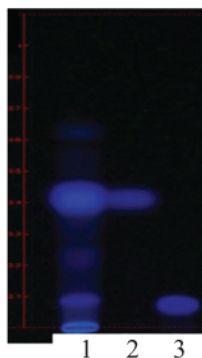
(표준액) 데쿠르신 및 데쿠르시놀표준품 1 mg을 각각 에탄올 1 mL에 녹임.

(검 액) 이 약의 가루 1 g을 달아 에탄올 5 mL를 넣고 수욕에서 10분간 가열한 다음 식히고 여과한 여액을 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>
- 전개용매 : hexan · 아세트산에틸혼합액(2:1)
- 발색제 : 자외선 (365 nm)

(TLC 패턴)



- 1 : 참당귀 (대조생약)
- 2 : 데쿠르신
- 3 : 데쿠르시놀

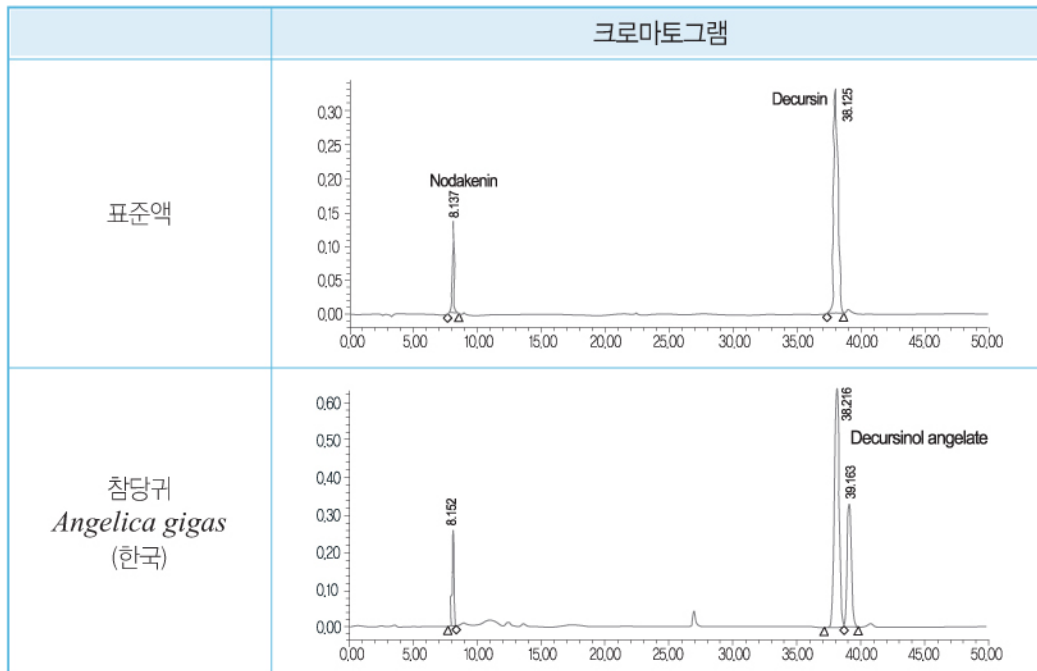
→ 데쿠르신은  $R_f$  값 0.4에서, 데쿠르시놀은  $R_f$  값 0.1 부근에서 나타  
나며, 모두 청색의 반점 확인

## 정량

(분석조건)<sup>4)</sup>

검출기	자외부흡광광도계 (330 nm)			
칼럼	C18 column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)			
주입량	10 $\mu$ L			
이동상	시간(분)	아세토니트릴(%)	물(%)	유량(mL/분)
	0	20	80	1.0
	3	20	80	1.0
	6	30	70	1.0
	15	30	70	1.0
	16	50	50	0.8
	45	50	50	0.8
	46	100	0	1.0
	50	100	0	1.0

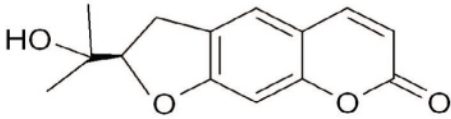
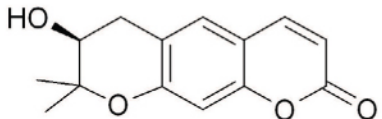
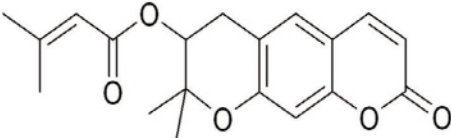
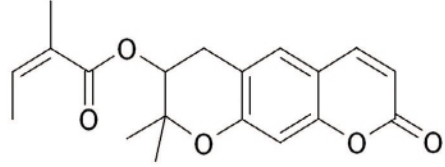
(LC 패턴)



4) KP 9개정에서 이동상 조건 일부 변경

## III 분석 정보

### (성분)

Nodakenin (C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub> )	Decursinol (C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> )
	
Decursin (C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> )	Decursinol angelate (C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> )
	

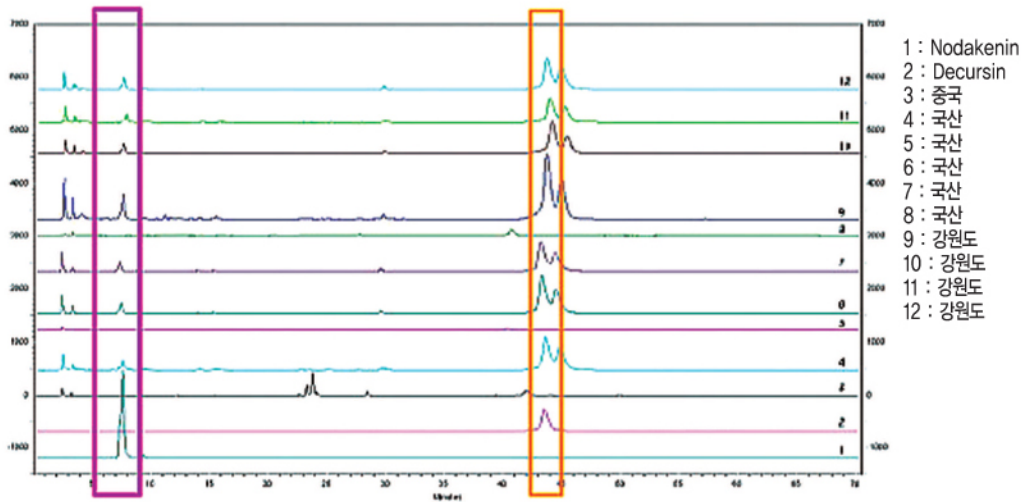
### 특이사항

- ▶ 정량법에서 표준액은 노다케닌과 데쿠르신을 이용하며 데쿠르시놀안젤레이트는 검액에서 확인 가능
  - 데쿠르시놀안젤레이트는 데쿠르신에 대한 상대유지시간 약 1.02
- ▶ 검액에서 데쿠르신과 데쿠르시놀안젤레이트가 분리되도록 농도구배조건을 조정하도록 함.

## 참고 당귀의 산지별 분석 패턴

[한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별), 2007 연구결과보고서]

: Nodakenin
  : Decursin





## 4. 도인

[대한약전 제9개정]

### 기 원

기원식물	학 명
복숭아나무	<i>Prunus persica</i> Batsch
산복사	<i>Prunus davidiana</i> Franchet

### 확인시험

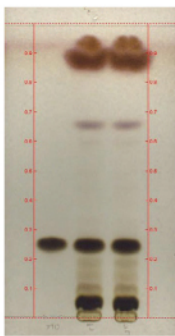
(표준액) 아미그달린표준품 2 mg을 달아 메탄올 1 mL에 녹여 표준액으로 함.

(검 액) 이 약의 가루 및 대조생약 1 g을 달아 각각 메탄올 10 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 10분간 가온 후 식히고 여과하여 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel
- 전개용매 : 아세트산에틸 · 메탄올 · 물혼합액(12:2:1)
- 발색제 : 묽은황산시액 분무 (105℃, 10분간 가열)

(TLC 패턴)



- 1 : 아미그달린
- 2 : 복숭아나무 (대조생약)
- 3 : 산복사 (대조생약)

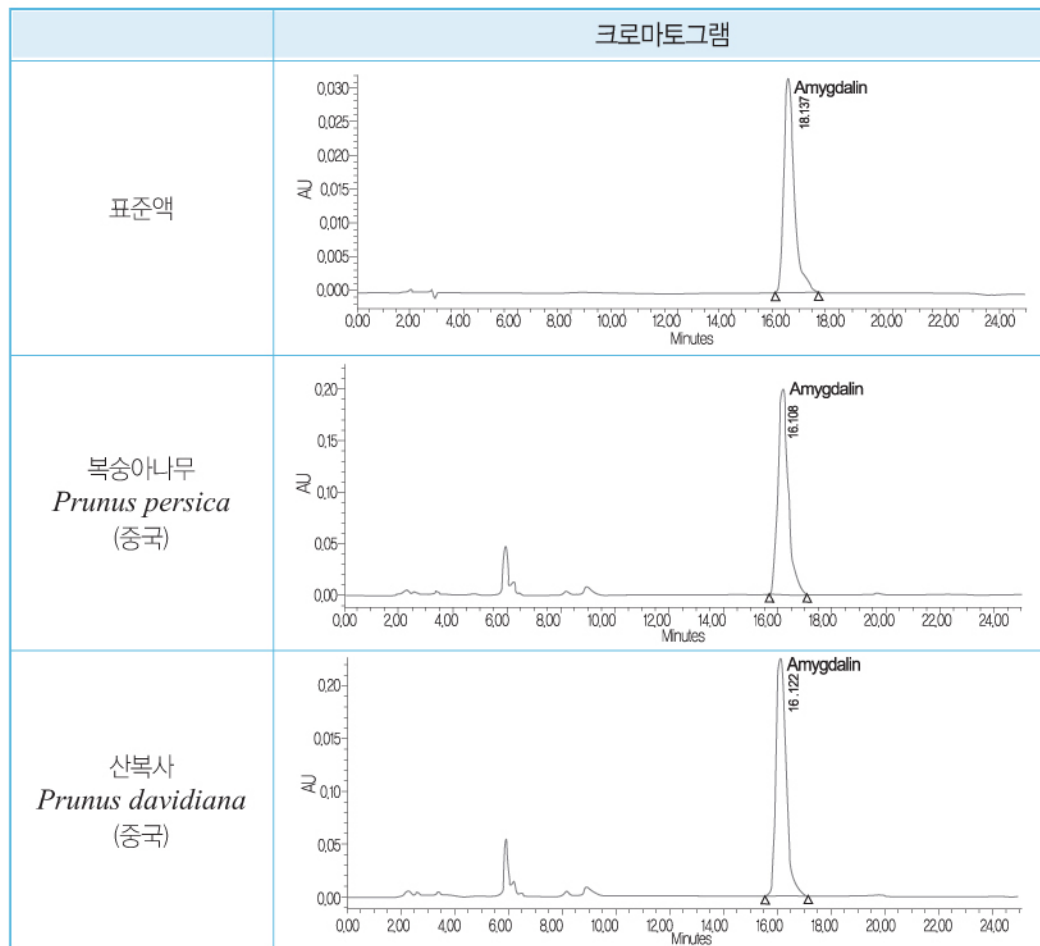
→ 복숭아나무와 산복사 TLC 패턴은 왼쪽과 같이 거의 비슷한 양상을 띠며, 두 기원식물 모두  $R_f$  값 0.25 부근에서 어두운 갈색의 아미그달린 반점 확인

## 정량

### (분석조건)

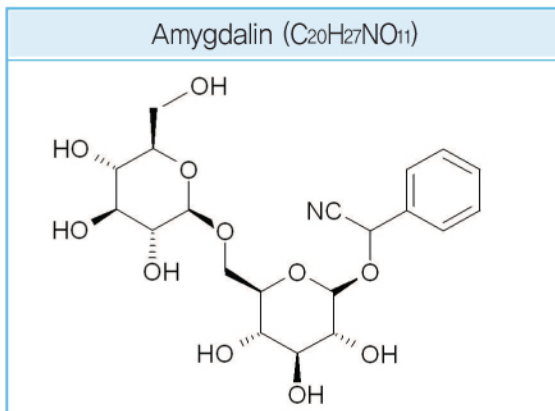
검출기	자외부흡광광도계 (214 nm))
칼럼	C18 column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)
이동상	메탄올 · 물혼합액(20:80)
유량	1.0 mL/분
주입량	10 $\mu$ L

### (크로마토그램)



## III 분석 정보

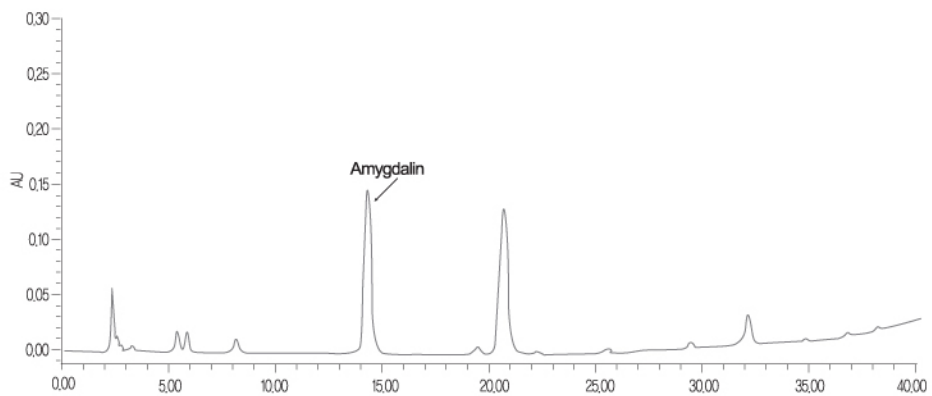
(성분)



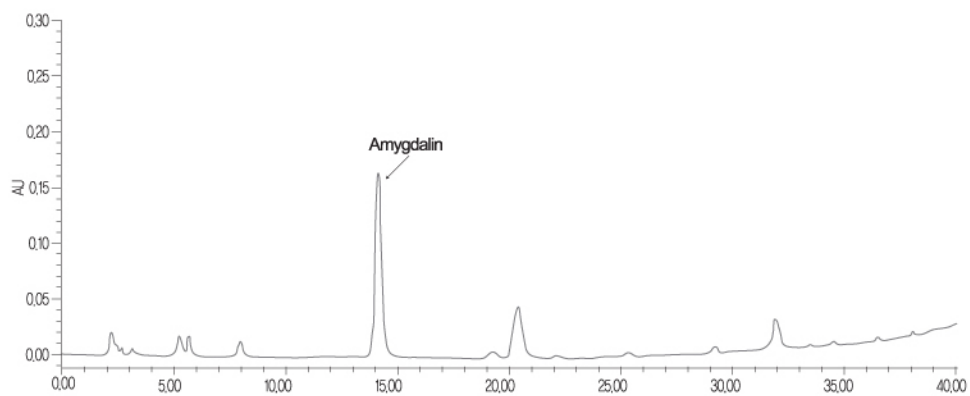
### 참고 도인의 산지별 분석 패턴

[대조생약의 제조 및 재평가 연구, 2010 연구결과보고서]

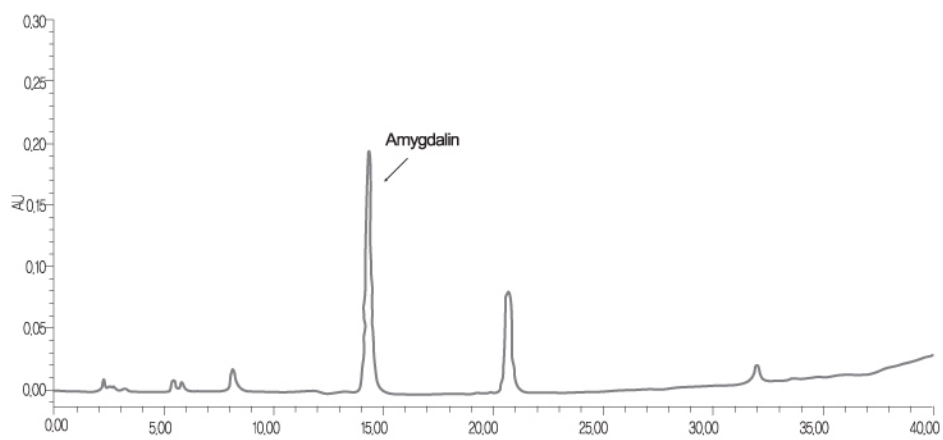
1) 도인, 남아공산



## 2) 도인, 중국산



## 3) 산도인, 중국산



## 5. 백지

[대한약전 제9개정 및 추보 2]

### 기 원

기원식물	학 명
구릿대	<i>Angelica dahurica</i> Benthām et Hooker f.
향백지	<i>Angelica dahurica</i> Benthām et Hooker f. var. <i>formosana</i> Shan et Yuan

### 확인시험

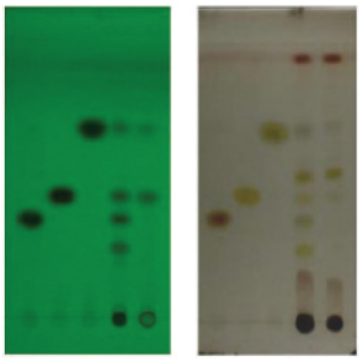
(표준액) 옥시퓨세다닌, 임페라토린, 이소임페라토린 1 mg을 달아 각각 메탄올 1 mL에 녹임.

(검 액) 이 약의 가루 1 g을 달아 메탄올 20 mL를 넣어 60 분간 초음파추출한 다음 감압농축하고 추출물에 메탄올 20 mL를 가하여 검액으로 함

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>
- 전개용매 : 헥산 · 아세트산에틸혼합액(2:1)
- 발색제 : 자외선 (254 nm)

(TLC 패턴)



1 : 옥시퓨세다닌  
2 : 임페라토린  
3 : 이소임페라토린  
4 : 구릿대 (대조생약)  
5 : 향백지 (대조생약)

→ 구릿대와 향백지 모두  $R_f$  0.4 부근에서 임페라토린,  $R_f$  0.7 부근에서 이소임페라토린 확인  
→ 구릿대  $R_f$  0.3 부근에서 옥시퓨세다닌 확인

## 정량

(분석조건)

검출기	자외부흡광광도계 (254 nm)
칼럼	C <sub>18</sub> column (5 μm, 4.6 × 250 mm)
이동상	메탄올 · 물혼합액(65:35)
유량	1.0 mL/분
주입량	10 μL

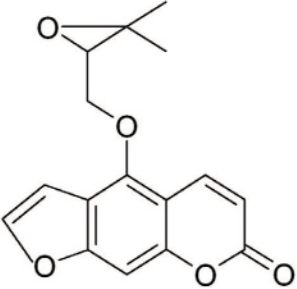
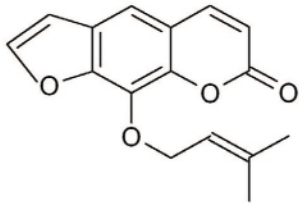
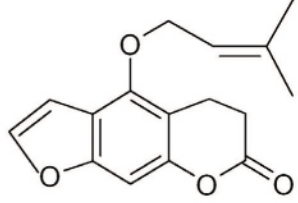
(LC 패턴)

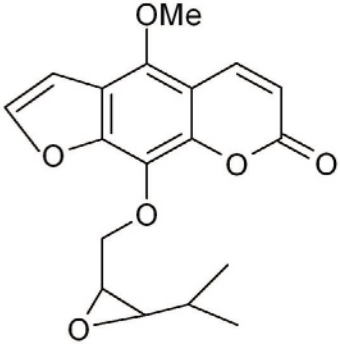
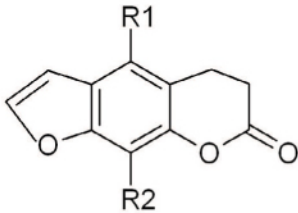
	크로마토그램
표준액	<p>Chromatogram of standard compounds showing peaks for Oxypeuceanin (8.535 min), Imperatorin (13.702 min), and Isoimperatorin (24.454 min).</p>
구릿대 <i>Angelica dahurica</i> (한국)	<p>Chromatogram of <i>Angelica dahurica</i> (Korea) showing peaks for Bykangelicol, Oxypeuceanin (8.761 min), Imperatorin (14.185 min), Phellopterin, and Isoimperatorin (25.673 min).</p>
항백지 <i>Angelica dahurica</i> var. <i>formosana</i> (중국)	<p>Chromatogram of <i>Angelica dahurica</i> var. <i>formosana</i> (China) showing peaks for Oxypeuceanin (8.749 min), Imperatorin (15.813 min), and Isoimperatorin (24.71 min).</p>



## III 분석 정보

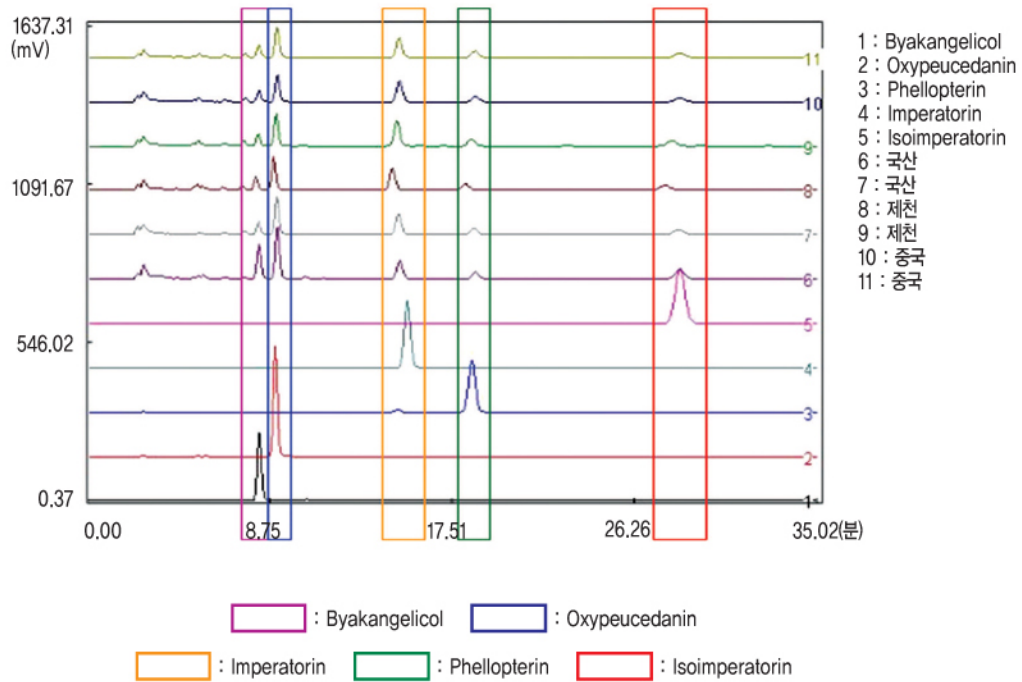
(성분)

옥시퓨세다닌 (C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> )	임페라토린 (C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> )	이소임페라토린 (C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> )
		

Byakangelicol (C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub> )	Phellopterin (C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> )
	 $R_1 = \text{OCH}_3$ $R_2 = \text{ODH}_2\text{-CH=C-(CH}_3)_2$

## 참고 백지의 산지별 LC 분석 패턴

[한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별), 2007 연구결과보고서]



## 6. 산수유

[대한약전 제9개정 및 추보 2]

### 기 원

기원식물	학 명
산수유나무	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini

### 확인시험

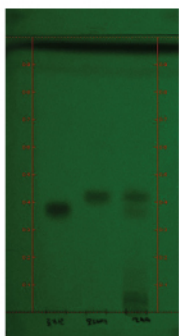
(표준액) 로가닌 및 모로니시드표준품 0.4 mg을 달아 각각 에탄올 1 mL에 녹여 표준액으로 함.

(검 액) 이 약의 가루 1 g을 달아 에탄올 10 mL를 넣고 5분간 흔들어 섞은 다음 여과하여 검액으로 함

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건외 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>
- 전개용매 : 디클로로메탄 · 메탄올 · 물혼합액(60:35:15)
- 발색제 : 자외선 (254 nm)

(TLC 패턴)



- 1 : 로가닌
- 2 : 모로니시드
- 3 : 산수유 (대조생약)

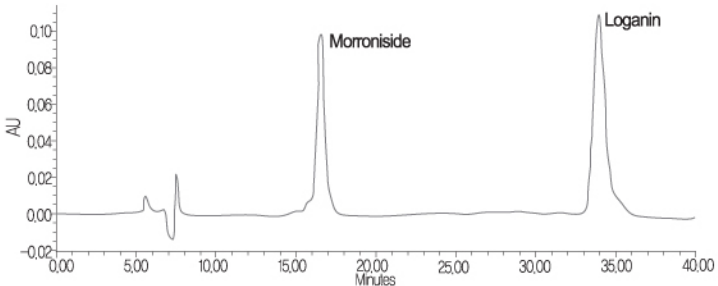
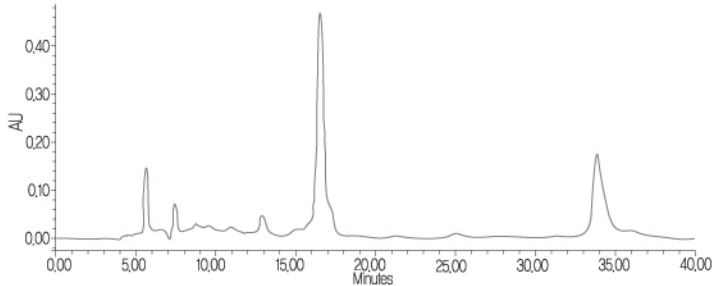
→ 로가닌은  $R_f$  값 0.37 부근에서, 모로니시드는  $R_f$  값 0.42 부근에서 검은색 반점 확인

## 정량

### (분석조건)

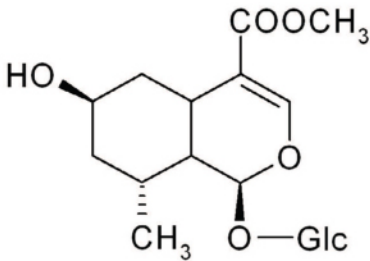
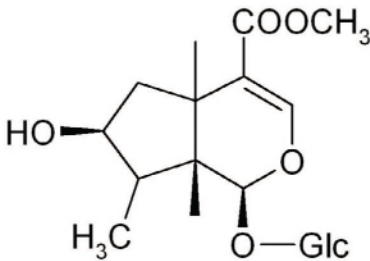
검출기	자외부흡광광도계 (240 nm)
칼럼	C18 column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)
이동상	아세토니트릴 · 메탄올 · 아세트산용액(0.1 $\rightarrow$ 100)혼합액(10 : 5 : 85)
유량	0.5 mL/분
주입량	10 $\mu$ L

### (LC 패턴)

	크로마토그램
표준액	
산수유 <i>Cornus officinalis</i> (한국 구례)	

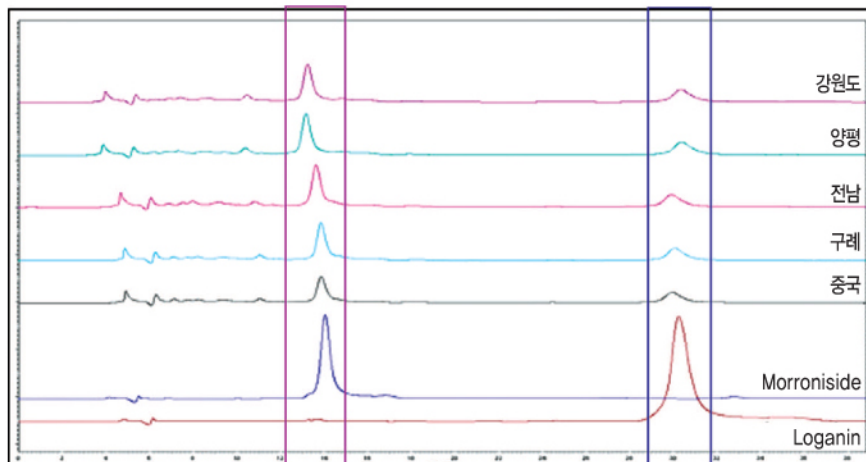
## III 분석 정보

(성분)

모로니시드 (C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub> )	로가닌 (C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub> )
	

### 참고 산수유의 산지별 LC 분석 패턴

[한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별), 2007 연구결과보고서]



## 7. 오미자

[대한약전 제9개정]

## 기 원

기원식물	학 명
오미자	<i>Schisandra chinensis</i> Baillon

## 확인시험

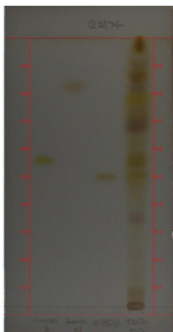
(표준액) 쉬잔드린, 고미신A 및 고미신 N 표준품 1 mg을 달아 각각 디클로로메탄 1 mL에 녹여 표준액으로 함.

(검 액) 이 약의 가루 1 g을 달아 각각 디클로로메탄 20 mL를 넣고 환류냉각기를 달고 수욕에서 30분간 가온한 다음 여과한 여액을 증발건고하여 잔류물을 메탄올 1 mL에 녹여 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건에 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel
- 전개용매 : 톨루엔 · 아세트산에틸 · 포름산혼합액(7:3:0.5)
- 발색제 : 묽은황산신액 분무 (105℃, 10분간 가열)

(TLC 패턴)



- 1 : 고미신 A
- 2 : 고미신 N
- 3 : 쉬잔드린
- 4 : 오미자 (대조생약)

→ 쉬잔드린은  $R_f$  값 0.5 부근에서, 고미신 A는  $R_f$  값 0.55 부근에서, 고미신 N은  $R_f$  값 0.8 부근에서 반점 확인



## 정량

### (분석조건)

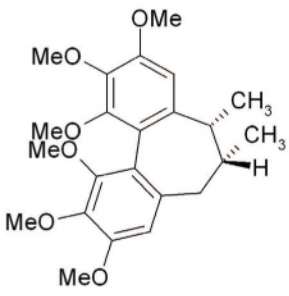
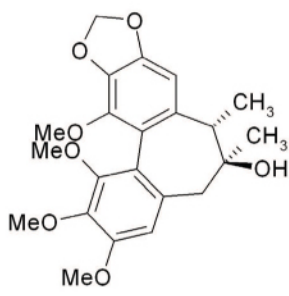
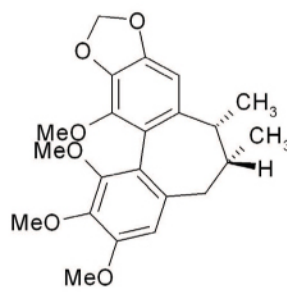
검출기	자외부흡광광도계 (254 nm)
칼럼	C18 column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)
이동상	아세토니트릴 · 물 · 포름산혼합액(70:30:0.1)
유량	0.6 mL/분
주입량	10 $\mu$ L

### (LC 패턴)

	크로마토그램
표준액	
오미자 <i>Schisandra chinensis</i> (한국)	

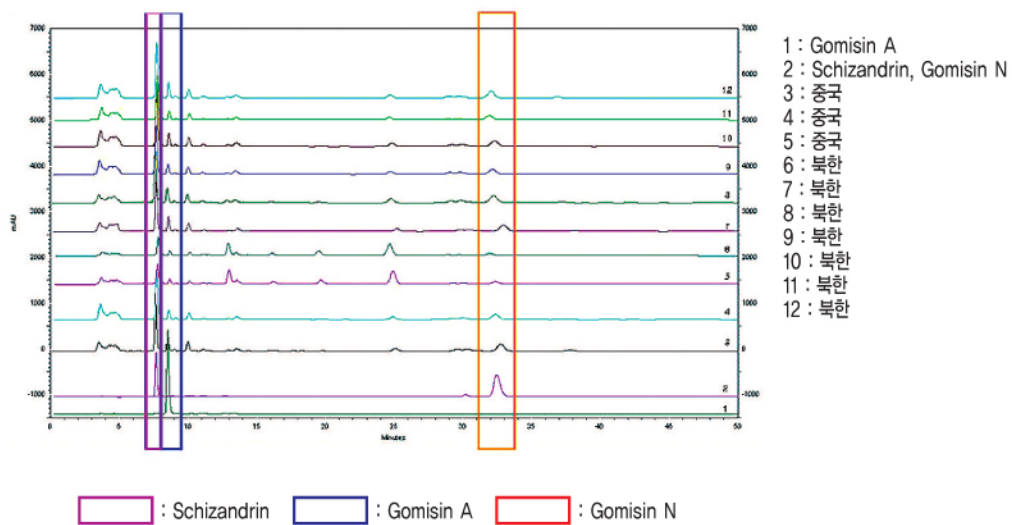
## III 분석 정보

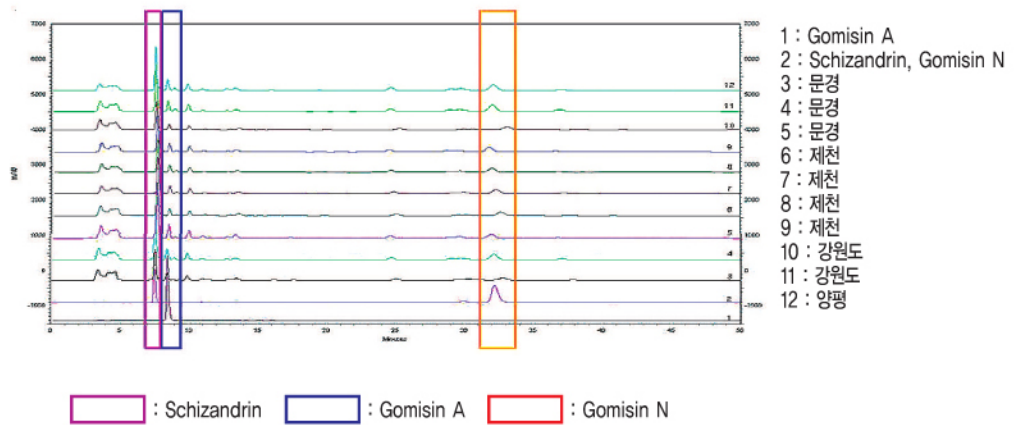
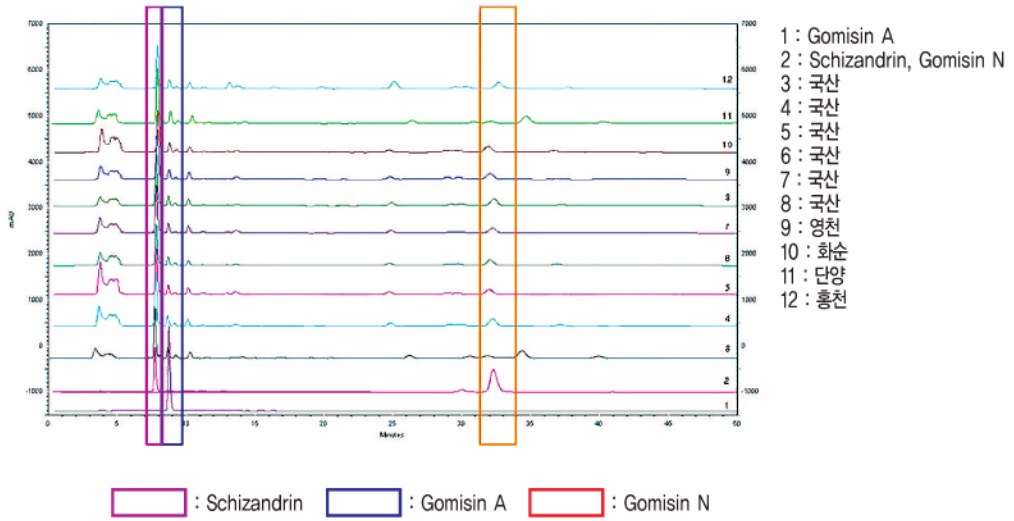
(성분)

쉬잔드린 (C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub> )	고미신 A (C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub> )	고미신 N (C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub> )
		

### 참고 오미자의 산지별 LC 분석 패턴

[한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별), 2007 연구결과보고서]





## 8. 작약

[대한약전 제9개정]

## 기 원

기원식물	학 명
작약	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas

## 확인시험

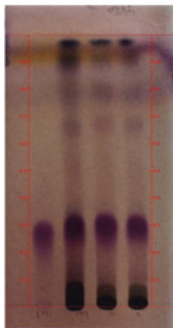
(표준액) 패오니플로린표준품 1 mg을 달아 메탄올 1 mL에 녹임.

(검 액) 이 약의 가루 2 g을 달아 메탄올 10 mL를 넣고 수욕에서 5분간 가온하고 식힌 후 여과한 여액을 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>
- 전개용매 : 아세톤 · 아세트산에틸 · 아세트산무수물혼합액(10:10:1)
- 발색제 :  $\rho$ -아니스알데히드 · 황산시액(105 °C, 10분간 가열)

(TLC 패턴)



- 1 : 패오니플로린
- 2 : 작약 대조생약
- 3 : 작약
- 4 : 작약

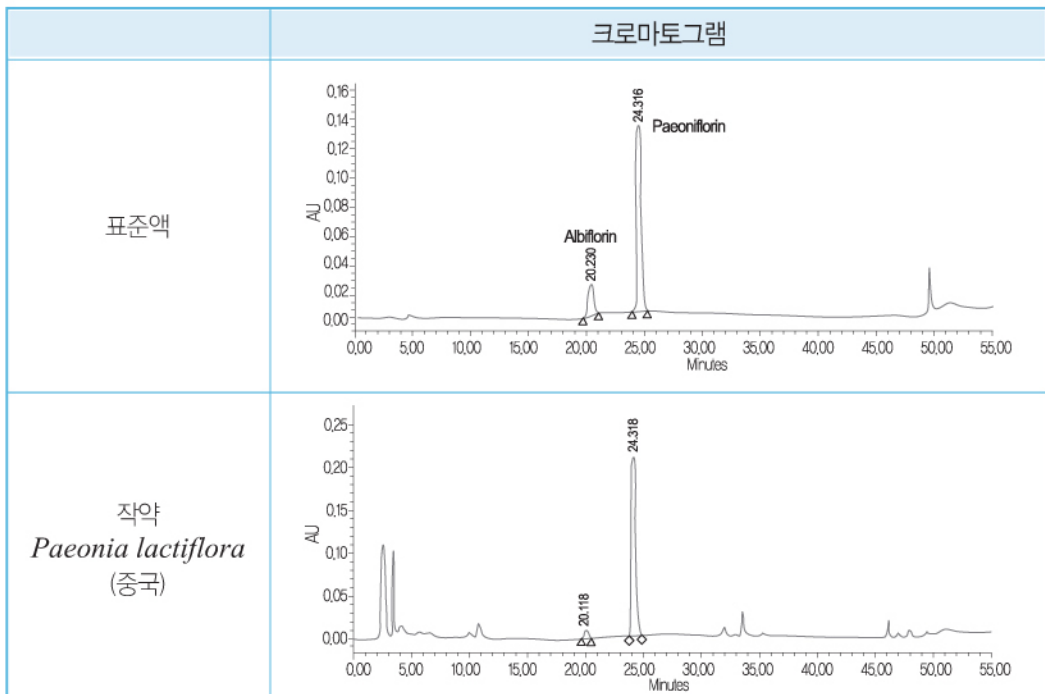
→  $R_f$  값 0.3 부근에서 보라색 패오니플로린 반점 확인

## 정량

### (분석조건)

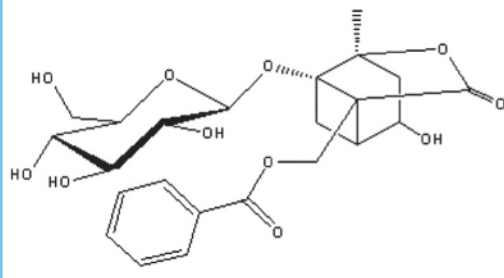
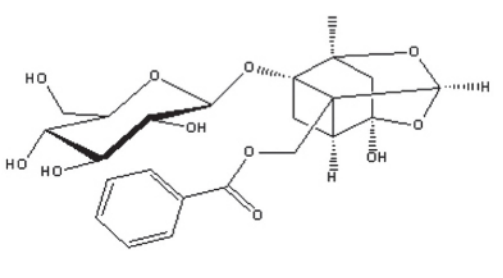
검출기	자외부흡광광도계 (230 nm)		
칼럼	C <sub>18</sub> column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)		
유량	1.0 mL/분		
주입량	20 $\mu$ L		
이동상	시간(분)	물(%)	아세토니트릴(%)
	0	90	10
	15	90	10
	30	80	20
	45	65	35
	48	50	50
	55	50	50

### (LC 패턴)



## III 분석 정보

(성분)

알비플로린 (C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub> )	패오니플로린 (C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub> )
	



## 9. 지실

[대한약전 제9개정]

### 기 원

기원식물	학 명
탱자나무	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinesque

### 확인시험

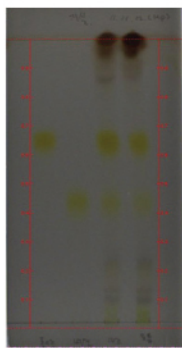
(표준액) 폰시린 및 나린진표준품 10 mg을 달아 각각 메탄올 10 mL에 녹여 표준액으로 함.

(검 액) 이 약의 가루 2 g을 달아 메탄올 10 mL를 넣고 수욕에서 5분간 가온하고 식힌 후 여과한 여액을 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel
- 전개용매 : 아세톤 · 아세트산에틸 · 아세트산무수물혼합액(10:10:1)
- 발색제 : 묽은황산시액 분무(105 ℃, 10분간 가열)

(TLC 패턴)



1 2 3 4

- 1 : 폰시린
- 2 : 나린진
- 3 : 지실 (대조생약)
- 4 : 지실

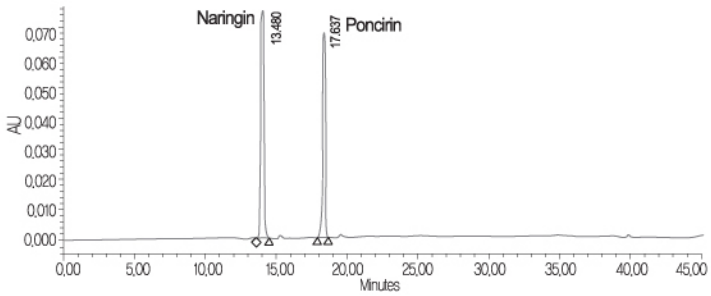
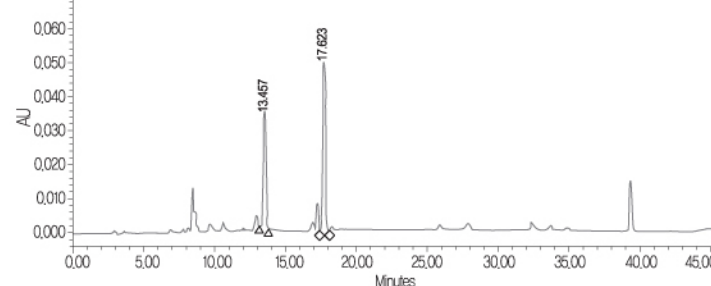
→  $R_f$  값 0.4 부근에서 폰시린,  $R_f$  값 0.65 부근에서 나린진의 노란색 반점 확인)

## 정량

### (분석조건)

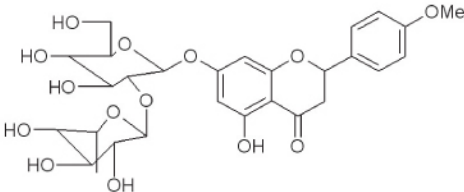
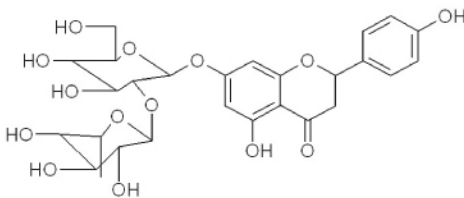
검출기	자외부흡광광도계 (313 nm)		
칼럼	C18 column (5 μm, 4.6 × 250 mm)		
유량	1.0 mL/분		
주입량	10 μL		
이동상	A - 아세트산용액(1 → 100) B - 아세트산 · 아세토니트릴혼합액(1 : 100)		
	시간(분)	A(%)	B(%)
	0	90	10
	30	90	10
	35	80	20
	40	65	35
	45	50	50

### (LC 패턴)

	크로마토그램
표준액	
탕자나무 <i>Poncirus lactiflora</i> (한국)	

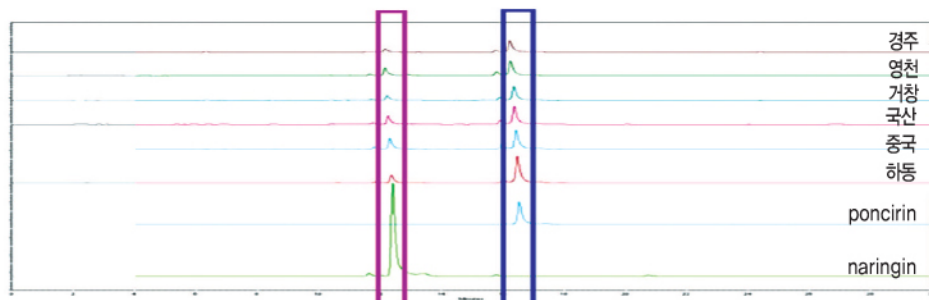
## III 분석 정보

### (성분)

Poncirin (C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>14</sub> )	Naringin (C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub> )
	

### 참고 지질의 산지별 분석 패턴

[한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별), 2007 연구결과보고서]



## 10. 진피

[대한약전 제9개정]

## 기 원

기원식물	학 명
귤나무	<i>Citrus Unshiu</i> Markovich
—	<i>Citrus reticulata</i> Blanco

## 확인시험

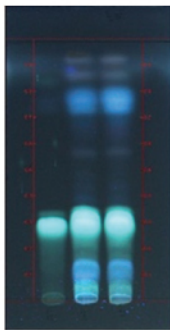
(표준액) 헤스페리딘표준품 1 mg을 달아 메탄올 1 mL에 녹임

(검 액) 이 약의 가루 0.5 g에 메탄올 10 mL를 넣고 20분간 초음파추출한 다음 여과하여 검액으로 함.

(조 작) 표준액 및 검액을 가지고 아래조건의 박층크로마토그래프법에 따라 시험

- 흡착제 : TLC silicagel 60 F<sub>254</sub>
- 전개용매 : 아세트산에틸 · 메탄올 · 물혼합액(100:17:3)
- 발색제 : 자외선 (365 nm)

(TLC 패턴)



1 2 3

- 1 : 헤스페리딘  
 2 : *Citrus unshiu* (귤나무) (대조생약)  
 3 : *Citrus reticulata* (대조생약)

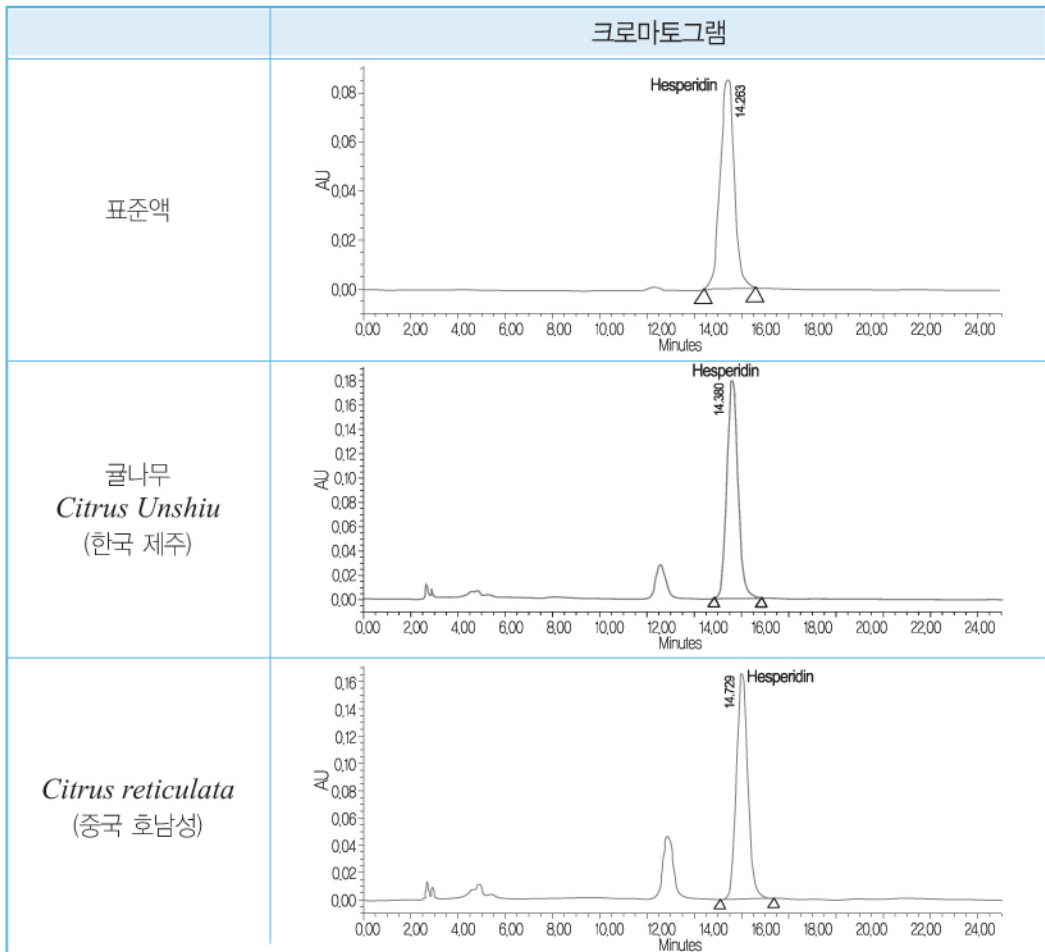
→ *Citrus unshiu* (귤나무)와 *Citrus reticulata* 모두  $R_f$  0.3 부근에서 청백색의 헤스페리딘 반점 확인

## 정량

(분석조건)

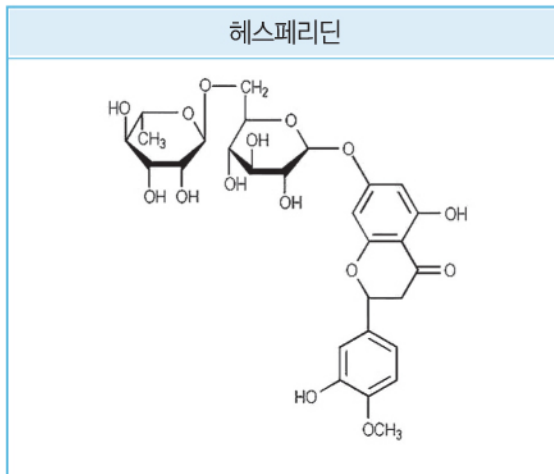
검출기	자외부흡광광도계 (280 nm)
칼럼	C <sub>18</sub> column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm)
이동상	메탄올 · 물혼합액(40:60)
유량	1.0 mL/분
주입량	10 $\mu$ L

(LC 패턴)



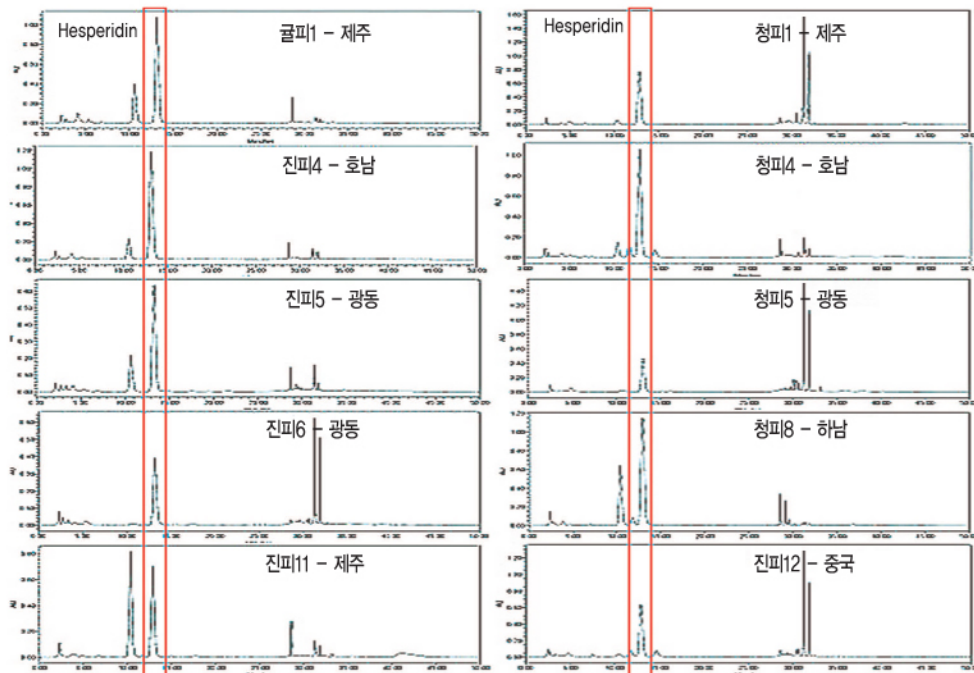
## III 분석 정보

(성분)



### 참고 진피 및 청피의 LC 분석 패턴

[대조생약 제조 및 재평가 연구, 2010]



#### IV. 참고문헌

1. 대한약전 제9개정. 2007
2. 대한약전 제9개정 후보 2. 2010
3. 의약품등 시험방법 밸리데이션에 대한 가이드라인 적용을 위한 해설서. 2008
4. 한약재 생리활성성분 모니터링(종별, 산지별). 2007
5. 생약의 확인시험법 개선에 관한 연구. 식약청 연구결과보고서. 2008
6. 대조생약 제조 및 재평가 연구 - 도인 등 10품목 제조 및 감초 등 20품목 재평가.  
식약청 연구결과보고서. 2010
7. 일본약국방 기술정보. 2006
8. 일본약국방 기술정보 후보. 2010
9. 대조생약 품목별 안내서. 2011



Korea Food & Drug Administration



## | 생약의 시험분석 사례집 |

- 발 행 일 2011년 11월
- 발 행 인 식품의약품안전평가원 김승희
- 편집위원장 식품의약품안전평가원 의료제품연구부 김동섭
- 편집위원 김도훈, 강인호, 김종환, 김지연, 염태경, 이종화, 현성예,  
이병희, 김선호, 이윤정, 김민경, 이춘길
- 문 의 처 우)363-951 충청북도 청원군 강외면 오송생명2로 187  
(연제리 643) 오송보건의료행정타운 식품의약품안전평가원  
의료제품연구부 생약연구과

Tel) 043) 719-4817

Fax) 043) 719-4800







이 책자의 본문은 친환경용지를 사용하였습니다.

“직무와 관련된 금품·향응을 주고받지 맙시다.”