

RP-HPLC를 이용한 감초에서 glabridin의 분리(II)

최두영 · 이광진 · 권문주 · 노경호*

*조정밀분리기술센터, 인하대학교, 화학공학과

Separation of Glabridin from Licorice by RP-HPLC(II)

Du Young Choi · Kwang Jin Lee · Moon Ju Kwun · Kyung Ho Row*

*Center for Advanced Bioseparation Technology and Dept. of Chem. Eng.,
Inha University, Incheon 402-751, Korea

서론

예로부터 감초는 약방식물로 동·서양에서 민간약으로 널리 쓰이는데, 주로 모든 중독의 해독제로 이용되고 백혈구의 증가, 이뇨작용, 항염작용 등이 있다. 또한 소화성 궤양 치료제 및 위궤양 치료제의 신약 처방에도 들어가 있어 의약품 쪽으로의 개발도 기대되어 진다[1]. 콩과(Leguminosae)에 속한 다년생 본초인 감초 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)는 여러해살이풀로 특이한 냄새가 약간 나며 맛은 달고 독특하다. 중국 내몽고, 감숙, 신장, 흑룡강성 등의 지역에서 주로 재배되고 있다.

자연 상태의 감초는 여러 가지 flavonoids로 구성되어 있는데, 그 중 단맛을 내는 부분이 glycyrrhizin이다[2]. glycyrrhizin은 현재 생약제제 등에서 감초의 지표성분으로서 HPLC에 의한 정량분석법이 고시되어 있으며, 그 규격은 2.0% 이상을 함유하도록 규정하고 있다[3]. 이 밖에도 Hispaglabridin A, Hispaglabridin B, Glabridin, 4*-O-methylglabridin, isoprenylchalcone derivative, Isoliquiritigenin, Formononetin 등이 있다.[4] 이 중 가장 많은 양을 차지하는 것은 glabridin이다. Glabridin은 체내에서 인체에 해로운 low density lipoprotein(LDL)의 산화를 억제시키는 효과가 있다고 알려졌다[5]. LDL은 콜레스테롤을 운 몸에 전달시키는 역할을 하는데 이 LDL의 양이 많아져 산화가 일어나면 동맥 경화, 당뇨병, 성인병 등의 원인이 된다[6]. 이를 방지하려면 콜레스테롤의 농도를 낮추어서 동맥에 지질이 침착되는 것을 막고 혈관세포의 기능을 유지시켜 줄 수 있다.[4] 또한 glabridin은 피부에 중요한 영향을 끼치는 hydrophobic 한 물질 중의 하나로 피부 미백에 탁월한 효과를 지니고 있다[7]. 따라서 최근 이러한 유용성 감초추출물을 원료로 하여 기능성화장품을 제조하는 예가 증가하고 있다[8].

본 연구의 목적은 주변에서 손쉽게 구할 수 있는 감초 중의 한 성분인 glabridin의 추출공정을 확립함으로써 이들 물질에 대한 상용공정의 기초 자료를 제공하고자 하는 것이다. 또한 액체 크로마토그래피를 이용하여 glabridin의 최적 분리조건을 찾고자 한다.

실험

1. 감초의 추출 및 전처리

감초 분말 20g에 ethyl acetate를 100ml씩 첨가하여 실온에서 1시간동안 초음파 추출하였다. 이 추출액을 Advantec 5C 여과한 후 감압 농축하여 용매를 증발시키고 methanol에 녹여 20ml로 정용하여 millipore 여과(0.45 μ m)하여 시험용액으로 하였다.

Glabridin 표준시료(97.0% 이상) 10mg을 10ml 메스플라스크에 취하여 methanol로 녹여 표준원액을 제조하였다. 표준시료는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd 제품을 사용하였으며, 추출시 사용된 ethyl acetate은 Showa Chemical Inc. 특급시약을 사용하였고 HPLC 이동상으로 쓰인 acetonitrile과 water은 Mallinckrodt(미국) 제품을 사용하였다.

2. 실험 장치

본 실험에서 사용된 HPLC는 Varian(미국)제품으로 solvent delivery system은 ProStar 230 ternary gradient pump이며 검출기는 ProStar 310 UV/VIS Detector, injection module은 ProStar 410 Autosampler를 사용하였고 data acquisition system은 Star LC workstation(Ver. 5.52)을 사용하였다. 또한 HPLC/MSD는 Agilent 1100 series(미국)로 quaternary pump, 검출기는 Diode Array detector를 사용하였으며 autosampler로 주입하여 Mass Selective Detector로 확인하였다. 이때 data acquisition system은 Agilent LC/MSD ChemStation Rev.A.08.03(847)을 사용하였다. 역상 컬럼은 Chrompack Omnispher 5 C₁₈ 250 \times 4.6mm(Varian, 미국)을 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0ml/min으로 고정시켰다. Injection 양은 20 μ l를 주입하였다.

결과 및 토론

감초의 가장 많은 성분인 glabridin은 인체내의 LDL을 억제하는 데 중요한 역할을 한다. 각종 성인병의 원인이 되는 콜레스테롤의 전달을 억제하기 때문에 향후 상업성이 매우 높은 물질이다. 또한 감초는 주변에 쉽게 구할 수 있는 생약물질이기 때문에 많은 연구가 진행되고 있다. 본 실험에서는 역상 컬럼을 이용하여 acetonitrile과 water를 이동상으로 실험하였다. 이동상의 조건을 acetonitrile/water =60/40 vol. %로 한 Fig. 1은 분석 시간이 10여분으로 비교적 짧았고, 컬럼 효율이 비교적 좋았다. acetonitrile/water=50/50, vol. %인 Fig. 2는 Fig.1과 비교하여, 용출 양과 컬럼 효율이 떨어지지만 기준선이 안정되어 있고 주변 물질 피크와 분리도가 Fig. 1에 비해 좋았다.

이상과 같이 추출 및 분리한 실험 결과를 표준 시료를 이용하여 확인, 검증하였다. 표준원액을 100배 희석한 표준용액과 시험용액에 대한 DAD 크로마토그램을 Fig. 3에 나타

냈다. Fig. 2의 피크 용출 시간이 비교적 표준 시료와 동일한 결과가 나타내는 것을 확인하였다.

알림

본 연구는 초정밀분리 기술 센터의 연구비지원에 의해서 수행되었습니다.

참고문헌

1. Tamir, S., Eizenberg, M., Somjen, D., Izael, S., and Vaya, J., *J. Steroid Bio. Mol. Biol.*, **78**, 291 (2001)
2. Hansen, H., K., Hansen, S., H., Kraunsoe, M., and Petersen, G., M., *Euro. J. Pharm. Sci.*, **9**, 41 (1999)
3. 대한민국보건복지부, “대한약전 제7개정”, 한국메디칼인텍스사, 707 (1998)
4. Vaya, J., Belinky, P., A., Aviram, M., *Free Radic. Biol. Med.*, **23**, 302 (1997)
5. Belinky, P., A., Aviram, M., Fuhrman, B., Rosenblat, M., and Vaya, J., *Atherosclerosis*, **137**, 49 (1998)
6. Aviram, M., *Atherosclerosis, Inflammation and Thrombosis*, 15 (1993)
7. Yokota, T., Nishio, H., Kubota, Y., Mizoguchi, M., *Pigment Cell Research*, **11**, 355 (1998)
8. Nishioka, K., Seguchi, T. *Contact Dermatitis* **40**, 56 (1999)

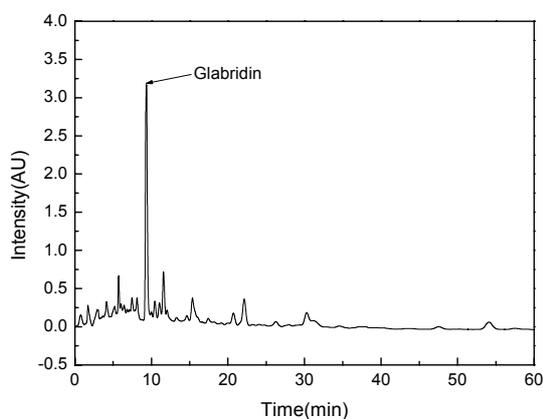


Fig. 1 Separation of glabridin in ethyl acetate extract by mobile phase composition. (acetonitrile/water : 60/40 vol.%, Isocratic mode)

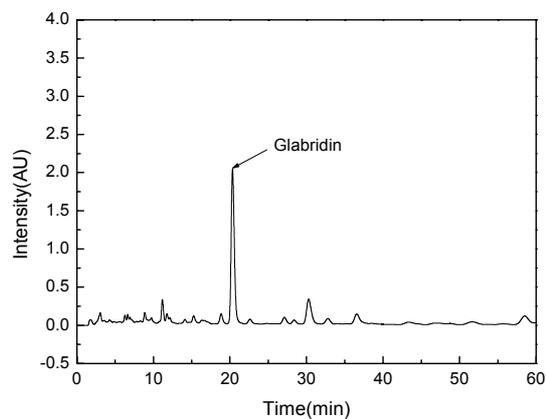


Fig. 2 Separation of glabridin in ethyl acetate extract by mobile phase composition. (acetonitrile/water : 50/50 vol.%, Isocratic mode)

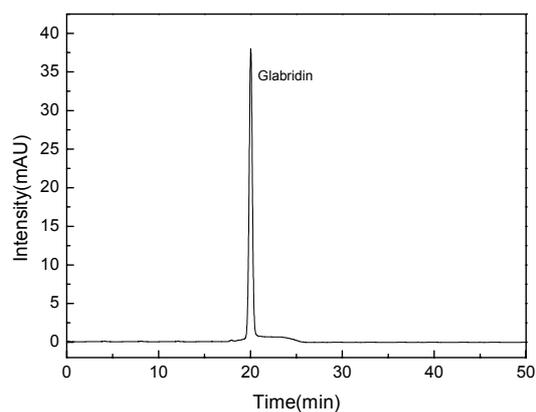


Fig. 3 DAD Chromatogram of glabridin standard solution