

황기에서 formononetin을 이용한 품질관리 및 함량변이 검정

강원대학교 : 홍순열, 배희애, 유창연, 임정대*, 정선균농업기술센터 : 최대성, 최유순,
건국대학교 : 정일민

Development of Marker Compounds for Product Quality using Formononetin in *Astragalus membranaceus*

Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University
: Soon Yeoul Hong, Hui Ae Bae, Jung Dae Lim*

Division of Applied Plant Science, Kangwon National University : Chang Yeon Yu
JEONGSEON Agricultural technology & Extension Center : Dae-Sung Cheoi, Yu-Soon Cheoi
Konkuk University : Ill-Min Chung

실험목적

- 황기 활성성분의 함량 수준은 재배지역과 수확시기에 따라 다양하게 나타나 품질의 표준화가 필요함. 이를 위해 황기로부터 6개의 isoflavonoid를 분리하여 동시 분석할 수 있는 방법을 확립하고 동일 분석조건에서 각 화합물의 황기의 품질을 평가하기 위한 marker compounds를 확인하여 extraction recovery, stability를 측정하였음
- 황기의 품질 표준화를 위해 선정된 marker compounds 중에서 적합한 회수율과 안정성을 가진 화합물을 수확시기별, 연근별, 부위별로 함량변이를 분석 비교하였음

재료 및 방법

- Isoflavonoid standard(calycosin-7-O-β-d-glucoside, formononetin-7-β-D-glucoside, (6αR, 11αR)-3-hydroxy-9,10-dimethoxypterocarpan 3-O-β-d-glucoside, 7,2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxysoflavan-7-O-β-d-glucoside, calycosin, formononetin)를 이용해 6개의 point로 나누어 분석하여 calibration curve를 작성, 추출된 황기 시료를 대상으로 HPLC 분석을 수행
- 3가지 농도(low, mid, high level)의 isoflavonoid 화합물을 첨가하여 추출된 황기 시료를 HPLC 분석을 통해 extraction recovery와 각 화합물의 stability(0, 4, 8, 24, 48, 72 시간)를 검정하였음
- 선정된 marker compound 중 적합한 회수율과 안정성이 있는 formononetin을 확인하여 황기의 수확시기별(5, 7, 9월), 연근별(2, 3, 5년근), 부위별(지상부, 주근, 측근)의 함량변이를 분석비교하였음

실험결과

1. 황기 시료로부터 분리된 6개의 isoflavonoid의 동시분석 방법을 적용하여 각 화합물의 회수율, 최소검출농도, 안정성 등을 확인하고 그중 (6αR, 11αR)-3-hydroxy-9,10-dimethoxypterocarpan 3-O-β-d-glucoside와 formononetin이 89-91%이 marker compound로 활용될 수 있음을 확인하였음

.....

주저자 연락처(Corresponding author) : 임정대 E-mail : ijdae@kangwon.ac.kr Tel : 82-33-570-6493

2. 황기의 재배기간별 formononetin 함량변이를 측정하여 본 결과 2년생과 3년생의 경우 지상부의 생육기간인 5월 시료에서는 지상부, 지하부 주근, 지하부 측근 상에 큰 함량차이를 나타내지 않았으며 2년생의 경우 7월 시료의 경우 지상부에서 가장 높은 함량을 나타내었고 지하부 주근, 지하부 측근 순으로 나타났으나 9월 시료에서는 반대로 지하부 측근, 지하부 주근, 지상부의 순으로 함량이 높았음.
3. 3년생 지하부 주근의 경우 5월에 8.2, 7월에 16.1, 9월에 24.1 $\mu\text{g}/\text{FW g}$ 로 증가하여 재배기간이 경과함에 따라 formononetin의 함량이 증대하는 경향을 나타내었으며 측근의 경우에서도 5월에 6.2, 7월에 26.7, 9월에 30.4 $\mu\text{g}/\text{FW g}$ 로 증가하여 유사한 결과를 나타내어옴
4. 년근별로 비교하여 보면 3년생의 지하부 측근 (3년근 9월시료; 30.37 $\mu\text{g}/\text{FW g}$)에서 가장 높은 함량을 나타내었으며 경우 5년근이 경우 지상부와 지하부의 함량 수준이 각 부위별로 월별로 고른 분포를 나타내었음
5. 황기의 품질평가를 위해 formononetin을 이용한 정량분석을 통해 단년근과 다년근의 구별과 품질관리를 달성할 수 있을 것으로 판단되며(단년근 5 $\mu\text{g}/\text{FW g}$ 이하// 2-5년근 : 지하부에서 15 $\mu\text{g}/\text{FW g}$ 이상) 5년근의 경우 지상부 9월 시료로부터 formononetin 함량을 분석하여 지하부의 품질을 판단할 수 있을 것으로 생각됨
6. formononetin 등의 isoflavonoid는 식물의 phytoalexin으로서 이는 위와 같은 수확시기별, 부위별, 년근별의 formononetin의 함량변이와 밀접한 관계가 있는 것으로 예상되어짐

Table 1. Recoveries(%) and relative standard deviations(RSD, %) of compounds 1 - 6 at the three levels of calibration range

Compound s	Low level, mean \pm S.D. (RSD), %	Mid level, mean \pm S.D. (RSD), %	High level, mean \pm S.D. (RSD), %	Recovery (%), mean \pm S.D	RSD, %
1	93.7 \pm 2.3 (2.44)	94.4 \pm 0.9 (0.95)	94.0 \pm 1.3 (1.33)	94.1 \pm 1.4	1.03
2	100.4 \pm 1.0 (0.95)	98.8 \pm 0.9 (0.88)	98.1 \pm 2.4 (2.41)	99.1 \pm 1.7	0.90
3	86.6 \pm 2.2 (2.50)	81.8 \pm 2.8 (3.49)	87.3 \pm 3.4 (3.86)	85.2 \pm 3.6	0.96
4	102.2 \pm 3.7 (3.61)	91.8 \pm 6.4 (6.92)	99.3 \pm 2.1 (2.15)	97.8 \pm 4.5	3.56
5	96.3 \pm 1.2 (1.20)	99.1 \pm 3.2 (3.23)	95.5 \pm 2.3 (2.42)	97.0 \pm 2.6	3.72
6	91.2 \pm 1.3 (1.43)	89.5 \pm 2.0 (2.14)	91.8 \pm 3.4 (3.66)	89.8 \pm 2.4	1.38

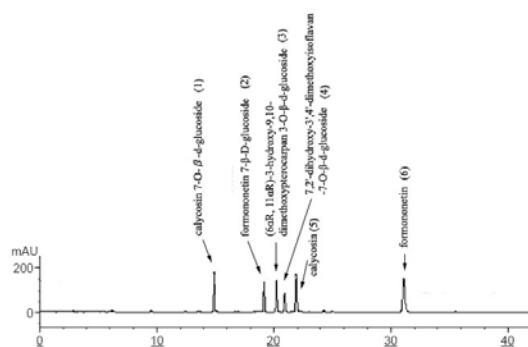


Fig. 1. Chromatograms of HPLC eluted with a gradient mobile phase on six isoflavonoid form root of *Astagalus membranaceus*

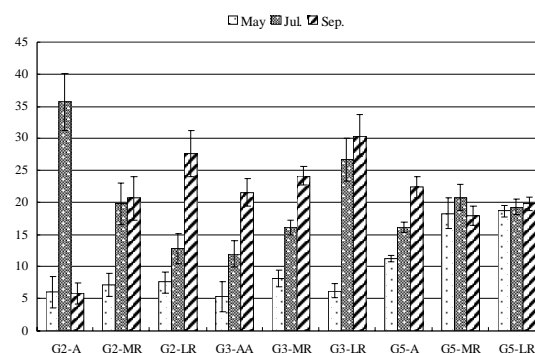


Fig. 2. Comparison of formononetin contents in *Astagalus membranaceus* by part and cultivation periods. G: years of perennation; A : aboveground parts; MR : main roots; LR : lateral roots