

## 紫蘇葉의 한약재 표준화 연구

김동우 · 황귀서\*

경원대학교 한의과대학

## Analysis of *Perilla frutescens* Using Liquid Chromatogram Pattern

Dong Woo Kim & Gwi Seo Hwang\*

College of Oriental Medicine, Kyungwon University

### Abstract

*Perilla frutescens* is known as the herb helps digestion, tonifies stomachache, and decreases fever in oriental medicine. And it is reported it possess the anti-pyretic effect, anti-inflammatory effect, anti-allergy effect, anti-tumor effect etc. The components isolated from this herb consist of perilla aldehyde, d-limonene,  $\alpha$ -pinene, cyanin, linoleic acid, palmitic acid, menthol, rosmarinic acid and luteolin etc. But there is no effective tools to determine the quality of this herb. In this study, we aimed to analyze the changes of liquid chromatogram pattern, one of major standardization method, to determine the quality of *Perilla frutescens*.

---

**Key words** : *Perilla frutescens*, standardization, HPLC, pattern.

---

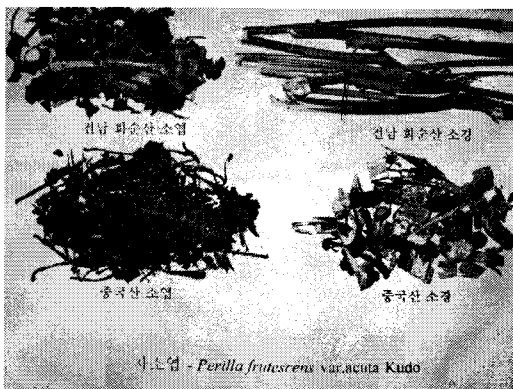
---

\* Corresponding author : Gwi Seo Hwang, College of Oriental Medicine, Kyungwon University  
Tel : 82-31-750-5421, E-mail : seoul@kyungwon.ac.kr

## I. 서론

자소엽(*Perilla folium*)은 차조기로 불리는 꿀풀과에 속하는 한해살이 초본식물의 잎으로 학명은 *Perilla frutescens* L. 이다. 잎은 대생으로 마주나고 달걀 모양 원형으로 뾰족하며 밑부분은 둥글다. 잎의 길이는 7~12cm, 나비 5~8cm로 톱니모양의 거치가 있고 자줏빛을 띤다. 중국, 한국 등 동아시아가 원산지로서 자생적으로 자라며 일부 농가에서 약용으로 재배하기도 한다. 현재는 전세계적으로 재배가 가능한 식물이다(1). 해열, 발한, 건위, 해독작용이 있어서 한의학에서는 解表散寒, 行氣寬中, 理氣安胎 약으로 사용되고 있다(2).

최근 연구결과, 자소엽은 항알러지 작용(3), 항암 작용(4), 항미생물 작용(5), 심근 수축력 강화 작용(6), 진정작용(7) 등을 나타내었다. 또한, 자소엽은 비특이적인 세포 면역을 강화시키고(8), IgA 유도 신장독성을 억제하였다(9). 자소엽의 주요성분으로는 perilla aldehyde, d-limonene,  $\alpha$ -pinene, cyanin, sterin, linolic, stearic, palmitic acid, menthol, rosmarinic acid 와 luteolin 등이 알려져 있다. 이중 rosmarinic acid 와 luteolin의 약효에 대한 다양한 연구 결과가 보고되었다(10-14).



자소엽의 품질은 주로 육안 검사와 회분함량 검사, 정유성분함량을 기준으로 평가되었다. 이는 한약재의 품질을 일정한 수준의 유효성과 안전성이 확보되도록 검증하는 방법으로는 정확성에 문제점이 있다. 한약재는 재배산지, 채취시기, 저장과정 등이 일정하지 못해서 균일한 품질을 유지하기 어려운 특징이 있다. 따라서, 균등한 품질을 얻기 위한 표준화된 방법과 표준화된 한약재를 개발하는 것은 매우 중요한 일이다. 본 연구는 자소엽 추출물에 대한 크로마토그램 패턴분석법을 이용하여 품질을 관리하는 것을 목적으로 하여 표준한약재를 개발하기 위해서 수행되었으며, 이를 위하여 자소엽 추출물의 특이적인 HPLC 크로마토그램을 얻고, 이 다변량 자료를 패턴분석법에 의해 해석하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 기기 및 시약

실험에 사용된 HPLC는 SCL-10A system controller, LC-10AD pump, SPD-10AVP diode array detector(Shimadzu, Kyoto, Japan), Rheodyne 7725 injector로 구성되었다. pH의 측정에는 ATI 370(Orion, MA, USA)을 3차 증류

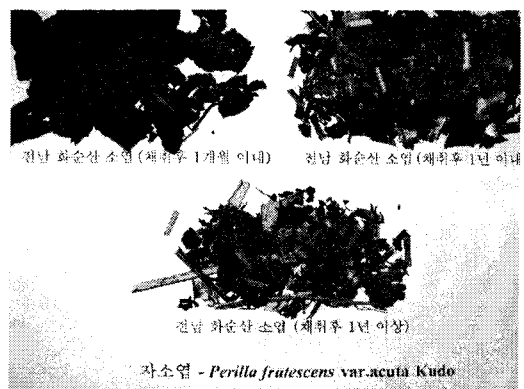


표 1. 시료의 학명 및 코드

시료	시료코드	학명	과명	산지 및 기원
자소엽A 1개월 이내	PFV1	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	꿀풀과	전남화순산
자소엽	PFV2	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	꿀풀과	중국산
자소경	PFV3	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	꿀풀과	전남 화순산
자소경	PFV4	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	꿀풀과	중국산
자소엽B 1년 이내	PFV5	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	꿀풀과	전남화순산
자소엽C 1년 이상	PFV6	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	꿀풀과	전남화순산

수의 제조에는 Milli-Q Apparatus(Millipore, MA, USA)를 사용하였다. acetonitrile은 HPLC 용으로 J. T. Baker(NJ, USA)로부터 구입하였다. 그 외의 시약은 국내의 특급 및 일급 시약을 사용하였고, 물은 3차 증류수를 0.25µm membrane filter로 여과하여 사용하였다.

## 2. 시료

시료는 건조한곳에 보관하였고 각각을 표 1과 같이 코드화 하였다.

## 3. HPLC용 시료 제조

시료를 건조기(40°C, 4h)에서 완전 건조 시켰다. 건조 시료를 분말로 한 후 100mg을 취해 마개달린 시험관에 넣고 메탄올 5ml를 넣어 40°C에서 1시간씩 3회 초음파를 이용하여 추출하였다. 추출액을 감압 하에서 용매를 증발 건조시킨 후 잔사에 메탄올 5ml에 넣어 녹였다. 용액을 원심분리 시키고 상층액을 HPLC로 분석하였다. 동일 조건에서 메탄올 대신 에틸아세테이트로 추출하고 용매를 증발시킨 후 메탄올 5ml에 용해시켜 HPLC 분석하였다.

## 4. 시료분석

다음 조건으로 HPLC를 이용하여 분석하였다.

HPLC 분석 조건	
Column : ZORBAX XDB-C18(ODS, 2.1×150mm)	
Mobile phase	
-A : 10% acetonitrile	- B : 70% acetonitrile
0 to 5 min : 0~15%	
5 to 10 min : 15~22%	
10 to 20 min : 20~55%	
20 to 30 min : 55~75%	
Flow rate : 0.4ml/min	
UV detector : 205nm	
Sample injection : 5µl	
Temperature : Room temp	

## 5. 다변량 패턴 분석을 위한 통계처리

HPLC 크로마토그램으로부터 피크의 높이를 구하고 서로 대응하는 피크의 상대 높이비를 산출하였다. 이들 산출된 비율의 산술평균(simple mean) 및 대조한약 피크의 상대적 크기에 따른 가중치를 적용한 가중평균(weighted mean)을 각각 구하고 이로부터 시료의 함량비율과 유사도를 검토하였다. 계산은 다음과 같은 방법에

따랐다.

- 성분의 상대 높이비:  $R_i = Sp_{(i)}/St_{(i)}$  (단,  $Sp_{(i)}$ 는 시료크로마토그램의 대응된 i번째 피크 높이,  $St_{(i)}$ 는 대조시료의 대응된 i번째 피크 높이)
- 산술평균:  $Ms = \sum R_i/n$  (단,  $\sum R_i$ 는 남아있는 data 비율의 합계, n은 남아있는 data 수)
- 가중평균:  $Mw = \sum (R_i/W_i)$  (단,  $W_i$ 는 가중치,  $W_i = St_{(i)}/\sum St_{(i)}$ )
- 대응도(Matching ratio, %) = (시료 중 대응된 피크의 수/대조생약 크로마토그램의 피크수) × 100
- 유사도(similarity, %) :  $\sum_{i=1}^n N_i \times W_i$ ,  $N_i = R_i/R_c$  (if  $R_i/R_c \leq 1$ ) or  $N_i = R_c/R_i$  (if  $R_i/R_c > 1$ ) (단,  $N_i$ 는 i번째 피크의 평균화된 높이비,  $R_c$ 는 패턴 인식법에 의해 계산된 시료의 평균 함량비)  $W_i$ 는 가중치.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 메탄올 추출액의 패턴분석

메탄올 추출액을 HPLC로 분석하고 크로마토그램으로부터 특징적인 피크를 선정, 피크의 높이를 측정하였다. 시료와 대조시료에 해당하는 피크의 높이비로부터 산술평균과 가중평균을 구하고 시료의 품질을 대조시료와 비교하였다.

- 상대 피크 높이비 산출: 수집된 시료의 HPLC 크로마토그램으로부터 9개의 피크를 골라내어 피크높이 및 상대적 피크높이를 다음 표와 같이 구하였다. 대조시료는 대응되는 피크의 수가 가장 많은 PFV1로 설정하였다. 한국산 자소엽인 PFV1, 3, 5, 6 중 PFV1, 5, 6의 시료가 비슷한 양상을

표 2 각 시료에 대한 피크의 높이 및 상대높이 비율

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9
PFV1	3347	245825	124972	2971	8131	4307	46657	10532	4243
Ri	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PFV2	<sup>b</sup>	13859	20081	-	2212	-	27986	5663	-
Ri	-	0.06	0.16	-	0.27	-	0.60	0.54	-
PFV3	-	-	-	-	-	-	6468	3807	-
Ri	-	-	-	-	-	-	0.14	0.36	-
PFV4	-	-	-	-	-	-	4119.0	3205.0	-
Ri	-	-	-	-	-	-	0.09	0.30	-
PFV5	2037.0	4273.0	2027.0	4863.0	11232.0	23633.0	49542.0	10415.0	4538.0
Ri	0.61	0.02	0.02	1.64	1.38	5.49	1.06	1.99	1.07
PFV6	3033.0	5074.0	4514.0	25419.0	48976.0	2128.0	28419.0	8969.0	2337.0
Ri	0.91	0.02	0.04	8.56	6.02	0.49	0.61	0.85	0.55

<sup>a</sup>:  $R_i$ : 대응되는 피크의 높이 비율,  $R_i = Sp_{(i)}/St_{(i)}$  (단,  $Sp_{(i)}$ 는 시료크로마토그램의 대응된 피크높이,  $St_{(i)}$ 는 대조시료의 대응된 피크높이)

<sup>b</sup>: 대응되는 피크가 없는 경우 계산에서 제외하였다.

표 3. 각 시료에 대한 산술평균의 비교

	각 시료 피크의 Ri 값									ΣR <sub>i</sub>	Ms <sup>b</sup>
	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9		
PFV1	1.00 <sup>a</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	9.00	1.00
PFV2	-	0.06	0.16	-	0.27	-	0.60	0.54	-	1.63	0.33
PFV3	-	-	-	-	-	-	0.14	0.36	-	0.50	0.25
PFV4	-	-	-	-	-	-	0.09	0.30	-	0.39	0.20
PFV5	0.61	0.02	0.02	1.64	1.38	5.49	1.06	1.99	1.07	12.27	1.36
PFV6	0.91	0.02	0.04	8.56	6.02	0.49	0.61	0.85	0.55	18.05	2.01

<sup>a</sup> R<sub>i</sub>: 대응되는 피크의 높이 비율, R<sub>i</sub> = Sp<sub>(i)</sub>/St<sub>(i)</sub>(단, Sp<sub>(i)</sub>는 시료크로마토그램의 대응된 피크높이, St<sub>(i)</sub>는 대조시료의 대응된 피크높이)

<sup>b</sup> Ms(산술평균) = ΣR<sub>i</sub>/n(단, ΣR<sub>i</sub>는 남아있는 data 비율의 합계, n은 남아있는 data 수)

표 4. 각 시료에 대한 가중평균의 비교

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9	Mw <sup>b</sup>
Wi <sup>a</sup>	0.007	0.545	0.277	0.007	0.018	0.010	0.103	0.023	0.009	
PFV2	0.000	0.031	0.045	0.000	0.005	0.000	0.062	0.013	0.000	0.15
PFV3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.008	0.000	0.02
PFV4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.007	0.000	0.02
PFV5	0.005	0.009	0.004	0.011	0.025	0.052	0.110	0.023	0.010	0.25
PFV6	0.007	0.011	0.010	0.056	0.109	0.005	0.063	0.020	0.005	0.29

<sup>a</sup> W<sub>i</sub>: 가중치, W<sub>i</sub> = St<sub>(i)</sub>/ΣSt<sub>(i)</sub>

<sup>b</sup> Mw(가중평균) = Σ(R<sub>i</sub>/W<sub>i</sub>)

보였고, 중국산 자소엽인 PFV2, 4 시료에서는 Peak들이 많이 발견되지 않았다. 대조시료에서 발견되지 않은 피크는 상대높이 비율을 산출할 수 없으므로 표에서는 이것을 표시만 하였을 뿐 실제 계산에는 산입하지 않았다.

- 시료에 대한 산술평균의 계산: 표 3에 대조시료와 대응하는 피크를 선정하고 이것으로부터 계산된 산술평균을 표시하였다. 실제 크로마토그램에서 관찰 할 경우 PFV5 과 PFV6은 전체적으로 보아 피크의 크기가 PFV1에 비해 작지만 산술평균은 큰 것처럼 계산 되었다. 이것은 대응되는 피크만

계산에 산입했기 때문에 대응되는 피크가 다른 경우 나타날 수 있다.

- 시료에 대한 가중평균의 계산: 표 4에 가중치로 계산된 가중평균을 표시하였다.
- 대조시료와 각 시료간의 유사도의 비교: 유사도를 비교하기 위하여 표 5와 같이 평균화된 높이비율을 계산하고 표 6과 같이 유사도와 대응도(matching ratio)를 구하였다. 대조시료인 PFV1에 대해 나머지 시료의 평균 유사도 및 대응도는 각각 31.7%, 7.4%, 6.2%, 14.4%, 6.8%이고 이중 PFV3, PFV4, PFV6 시료가 낮았다.
- 각 시료의 품질 비교: 표 7에 산술평균

표 5. 평균화된 높이비율

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9	Ms <sup>b</sup>
PFV2	<sup>a</sup>	0.17	0.49	-	0.84	-	0.54	0.61	-	0.33
PFV3	-	-	-	-	-	-	0.55	0.69	-	0.25
PFV4	-	-	-	-	-	-	0.45	0.65	-	0.20
PFV5	0.45	0.01	0.01	0.83	0.99	0.25	0.78	0.73	0.78	1.36
PFV6	0.45	0.01	0.02	0.23	0.33	0.25	0.30	0.42	0.27	2.01

<sup>a</sup> N<sub>i</sub>: i번째 피크의 평균화된 높이비율, N<sub>i</sub> = R<sub>i</sub>/R<sub>c</sub>(if R<sub>i</sub>/R<sub>c</sub> ≤ 1) or N<sub>i</sub> = R<sub>c</sub>/R<sub>i</sub>(if R<sub>i</sub>/R<sub>c</sub> > 1)(단, N<sub>i</sub>는 i번째 피크의 평균화된 높이비, R<sub>c</sub>는 패턴인식법에 의해 계산된 시료의 평균함량비), R<sub>i</sub>: 대응되는 피크의 높이 비율, R<sub>i</sub> = Sp<sub>(i)</sub>/St<sub>(i)</sub>(단, Sp<sub>(i)</sub>는 시료크로마토그램의 대응된 피크높이, St(i)는 대조시료의 대응된 피크높이)

<sup>b</sup> Ms: 산술평균

표 6. 대조시료에 대한 각 시료의 유사도 및 대응도

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9	유사도 (%) <sup>b</sup>	대응도 (%) <sup>c</sup>
Wi	0.007	0.545	0.277	0.007	0.018	0.010	0.103	0.023	0.009		
PFV2	<sup>a</sup>	9.446	13.69	-	1.508	-	5.611	1.413	-	31.7	55.6
PFV3	-	-	-	-	-	-	5.736	1.615	-	7.4	22.2
PFV4	-	-	-	-	-	-	4.653	1.506	-	6.2	22.2
PFV5	0.331	0.695	0.330	0.549	1.779	0.237	8.059	1.694	0.738	14.4	100.0
PFV6	0.335	0.561	0.499	0.154	0.600	0.235	3.142	0.992	0.258	6.8	100.0

<sup>a</sup> Ni × Wi × 100(단, Ni는 각 피크들의 평균화된 면적비율, Wi는 가중치)

<sup>b</sup> 유사도(%):  $\sum_{k=1}^n (N_k \times W_k)$

<sup>c</sup> 대응도(%) = (시료 중 대응된 피크의 수/대조생약 크로마토그램의 피크수) × 100

표 7. 대조시료 대비 평균에 의한 각 시료의 품질비교<sup>a</sup>

시료	시료코드	산술평균	가중평균	비고
자소엽A 1개월 이내	PFV1	-	-	대조시료
자소엽 (중국산)	PFV2	×	×	
자소경 (전남 화순산)	PFV3	×	×	
자소경 (중국산)	PFV4	×	×	
자소엽B 1년 이내	PFV5	○	×	
자소엽C 1년 이상	PFV6	○	×	

<sup>a</sup> ○: 성분함량 높음 - Ms 혹은 Mw 값 > 1.0

△: 성분함량 보통 - 0.6 ≤ Ms(Mw) ≤ 1.0

×: 성분함량 낮음 - Ms(Mw) < 0.6

표 8. 각 시료에 대한 피크의 높이 및 상대높이 비율

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9
PFV1	10295	206166	109936	7496	6007	4147	34106	6362	7464
Ri	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PFV2	1526	15985	26422	2377	4938	3079	19798	4652	- <sup>b</sup>
Ri	0.15	0.08	0.24	0.32	0.82	0.74	0.58	0.73	-
PFV3	-	-	-	-	-	2219	4310	-	-
Ri	-	-	-	-	-	0.54	0.13	-	-
PFV4	-	-	2040.0	-	2224.0	2177.0	2507.0	1986.0	-
Ri	-	-	0.02	-	0.37	0.52	0.07	0.31	-
PFV5	2530.0	5909.0	6145.0	8943.0	0.0	3603.0	40567.0	8175.0	-
Ri	0.25	0.03	0.06	1.19	-	0.87	1.19	1.28	-
PFV6	1116.0	4545.0	4260.0	37071.0	0.0	3102.0	28781.0	7034.0	-
Ri	0.11	0.02	0.04	4.95	-	0.75	0.84	1.11	-

<sup>a</sup>: Ri: 대응되는 피크의 높이 비율,  $R_i = Sp_{(i)} / St_{(i)}$  (단,  $Sp_{(i)}$ 는 시료크로마토그램의 대응된 피크높이,  $St_{(i)}$ 는 대조시료의 대응된 피크높이)

<sup>b</sup>: 대응되는 피크가 없는 경우 계산에서 제외하였다.

및 가중평균으로부터 비교된 여섯 가지 시료의 품질을 표시하였다. 전남 화순에서 1개월 이내에 채취한 자소엽을 대조시료로 했을 때 중국산 자소엽, 전남 화순산 자소경, 중국산 자소경이 특히 유사도가 낮았고, 나머지 한국산 자소엽은 비슷한 양상을 보였다.

## 2. 에틸아세테이트 추출액의 패턴분석

에틸아세테이트 추출액을 HPLC로 분석하고 크로마토그램으로부터 특징적인 피크를 선정, 피크의 높이를 측정하였다. 시료와 대조시료에 해당하는 피크의 높이비로부터 산술평균과 가중평균을 구하고 시료의 품질을 대조시료와 비교하였다.

- 상대 피크 높이비 산출: 수집된 시료의 HPLC 크로마토그램으로부터 9개의 피크

를 골라내어 피크높이 및 상대적 피크높이를 다음 표와 같이 구하였다. 대조시료는 대응되는 피크의 수가 가장 많은 PFV1으로 설정하였다. PFV3(화순산 자소경)과 PFV4(중국산 자소경)을 제외한 나머지 시료는 피크높이의 차이는 있지만 비슷한 양상을 나타냈다. 대조시료에서 발견되지 않은 피크는 상대높이 비율을 산출할 수 없으므로 표에서는 이것을 표시만 하였을 뿐 실제 계산에는 산입하지 않았다.

- 시료에 대한 산술평균의 계산: 표 9에 대조시료와 대응하는 피크를 선정하고 이것으로부터 계산된 산술평균을 표시하였다. 실제 크로마토그램에서 관찰할 경우 PFV6은 전체적으로 보아 피크의 크기가 PFV1에 비해 작지만 산술평균은 큰 것처럼 계산되었다. 이것은 대응되는 피크만 계산에 산입했기 때문으로 대응되는 피크가 다

표 9. 각 시료에 대한 산술평균의 비교

	각 시료 피크의 Ri 값									ΣRi	Ms <sup>b</sup>
	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9		
PFV1	1.00 <sup>a</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	9.00	1.00
PFV2	0.15	0.08	0.24	0.32	0.82	0.74	0.58	0.73	-	3.66	0.46
PFV3	-	-	-	-	-	0.54	0.13	-	-	0.66	0.33
PFV4	-	-	0.02	-	0.37	0.52	0.07	0.31	-	1.3	0.3
PFV5	0.25	0.03	0.06	1.19	-	0.87	1.19	1.28	-	4.9	0.7
PFV6	0.11	0.02	0.04	4.95	-	0.75	0.84	1.11	-	7.8	1.1

<sup>a</sup> Ri : 대응되는 피크의 높이 비율,  $R_i = S_{p(i)}/St_{(i)}$ (단,  $S_{p(i)}$ 는 시료크로마토그램의 대응된 피크높이,  $St_{(i)}$ 는 대조시료의 대응된 피크높이)

<sup>b</sup> Ms(산술평균) =  $\Sigma R_i/n$ (단,  $\Sigma R_i$ 는 남아있는 data 비율의 합계, n은 남아있는 data 수)

표 10 각 시료에 대한 가중평균의 비교

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9	Mw <sup>b</sup>
	Wi <sup>a</sup>									
PFV2	0.004	0.041	0.067	0.006	0.013	0.008	0.051	0.012	-	0.20
PFV3	-	-	-	-	-	0.006	0.011	-	-	0.02
PFV4	-	-	0.005	-	0.006	0.006	0.006	0.005	-	0.03
PFV5	0.006	0.015	0.016	0.023	-	0.009	0.103	0.021	-	0.19
PFV6	0.003	0.012	0.011	0.095	-	0.008	0.073	0.018	-	0.22

<sup>a</sup> Wi : 가중치,  $W_i = St_{(i)}/\Sigma St_{(i)}$

<sup>b</sup> Mw(가중평균) =  $\Sigma(R_i/W_i)$

른 경우 나타날 수 있다.

- 시료에 대한 가중평균의 계산: 표 10에 가중치로 계산된 가중평균을 표시하였다.
- 대조시료와 각 시료간의 유사도의 비교: 유사도를 비교하기 위하여 표 11과 같이 평균화된 높이비율을 계산하고 표 6과 같이 유사도와 대응도(matching ratio)를 구하였다. 대조시료인 PFV1에 대한 각 시료의 유사도는 35.2%, 4.0%, 7.4%, 13.3%, 11.6%로 매우 낮았다. 이것은 시료가 서로 다른 종일 가능성이 높은 것으로 판단되었다.
- 각 시료의 품질 비교: 표 13에 산술평균 및 가중평균으로부터 비교된 여섯가지 시

료의 품질을 표시하였다. 채취 후 1개월 된 전남 화순산 자소엽을 대조시료로 했을 때 채취 후 1년 이내의 자소엽과 채취 후 1년 이상 된 자소엽의 성분함량이 산술평균으로 판단했을 경우 높은 것으로 나타났다. 이 중 채취 후 1년 이상 된 자소엽은 산술평균과 가중평균이 각각 1.1와 0.22로 그 차이가 컸다.

### 3. 메탄올 추출액과 에틸아세테이트 추출액의 비교

메탄올 추출액의 크로마토그램과 에틸아세테



표 11. 평균화된 높이비율

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9	Msb
PFV2	0.32	0.17	0.53	0.69	0.56	0.62	0.79	0.63	- <sup>a</sup>	0.5
PFV3	-	-	-	-	-	0.62	0.38	-	-	0.3
PFV4	-	-	0.07	-	0.70	0.50	0.28	0.83	-	0.3
PFV5	0.35	0.04	0.08	0.58	-	0.80	0.58	0.54	-	0.7
PFV6	0.10	0.02	0.03	0.23	-	0.67	0.76	0.99	-	1.1

<sup>a</sup> N<sub>i</sub>: i번째 피크의 평균화된 높이비율, N<sub>i</sub> = R<sub>i</sub>/R<sub>c</sub>(if R<sub>i</sub>/R<sub>c</sub> ≤ 1) or N<sub>i</sub> = R<sub>c</sub>/R<sub>i</sub>(if R<sub>i</sub>/R<sub>c</sub> > 1)(단, N<sub>i</sub>는 i번째 피크의 평균화된 높이비, R<sub>c</sub>는 패턴인식법에 의해 계산된 시료의 평균함량비), R<sub>i</sub>: 대응되는 피크의 높이 비율, R<sub>i</sub> = Sp<sub>(i)</sub>/St<sub>(i)</sub>(단, Sp<sub>(i)</sub>는 시료크로마토그램의 대응된 피크높이, St<sub>(i)</sub>는 대조시료의 대응된 피크높이)

<sup>b</sup> Ms: 산술평균

표 12. 대조시료에 대한 각 시료의 유사도 및 대응도

	Peak1	Peak2	Peak3	Peak4	Peak5	Peak6	Peak7	Peak8	Peak9	유사도 (%) <sup>b</sup>	대응도 (%) <sup>c</sup>
Wi	0.026	0.526	0.280	0.019	0.015	0.011	0.087	0.016	0.019		
PFV2	0.851	8.915	14.74	1.326	0.853	0.652	6.856	1.015	- <sup>a</sup>	35.2	88.9
PFV3	-	-	-	-	-	0.654	3.325	-	-	4.0	22.2
PFV4	-	-	2.003	-	1.076	0.524	2.461	1.351	-	7.4	55.6
PFV5	0.928	2.168	2.255	1.114	-	0.847	5.086	0.878	-	13.3	77.8
PFV6	0.255	1.039	0.974	0.432	-	0.709	6.579	1.608	-	11.6	77.8

<sup>a</sup> N<sub>i</sub> × W<sub>i</sub> × 100(단, N<sub>i</sub>는 각 피크들의 평균화된 면적비율, W<sub>i</sub>는 가중치)

<sup>b</sup> 유사도(%):  $\sum_{k=1}^n (N_k \times W_k)$

<sup>c</sup> 대응도(%) = (시료 중 대응된 피크의 수/대조생약 크로마토그램의 피크수) × 100

이트 추출액의 크로마토그램은 상당히 유사하지만 새로운 피크의 출현과 더불어 기존 피크의 크기도 변화하는 것으로 나타났다. 표 14에 메탄올 추출액과 에틸아세테이트 추출액으로부터 구한 각 평균값을 비교하였다. 전체적으로 산술평균과 가중평균의 차이가 크게 나타났고, 특히 채취 후 1년 이상된 자소엽은 메탄올 추출물이나 에틸아세테이트 추출물에서 모두 큰 차이를 보였다.

#### 4. TLC를 이용한 패턴 분석

##### a) 비극성조건에서의 TLC 패턴 분석

TLC 분석 조건
Mobile phase > Hexane : Ethyl acetate = 2 : 1
Stationary phase > Kieselgel 60 F <sub>254</sub> (Merck), HPTLC용 silica plate
Development temp. : room temperature
Detection reagent > 10% sulfuric acid
Detection method : 100°C dry

표 13. 대조시료 대비 평균에 의한 각 시료의 품질비교<sup>a</sup>

시료	시료코드	산술평균	가중평균	비고
자소엽A 1개월 이내	PFV1	-	-	대조시료
자소엽 (중국산)	PFV2	×	×	
자소경 (전남 화순산)	PFV3	×	×	
자소경 (중국산)	PFV4	×	×	
자소엽B 1년 이내	PFV5	△	×	
자소엽C 1년 이상	PFV6	○	×	

<sup>a</sup> ○ : 성분함량 높음 - Ms 혹은 Mw 값 > 1.0

△ : 성분함량 보통 -  $0.6 \leq Ms(Mw) \leq 1.0$

× : 성분함량 낮음 -  $Ms(Mw) < 0.6$

표 14. 메탄올 추출액과 에틸아세테이트 추출액의 평균에 의한 각 시료의 품질비교

시료	시료코드	산술평균 Ms			가중평균 Mw		
		MeOH	EtOAc	mean	MeOH	EtOAc	mean
자소엽A 1개월이내	PFV1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
자소엽 (중국산)	PFV2	0.33	0.46	0.40	0.15	0.20	0.17
자소경 (전남 화순산)	PFV3	0.25	0.33	0.29	0.02	0.02	0.02
자소경 (중국산)	PFV4	0.20	0.30	0.25	0.02	0.03	0.03
자소엽B 1년이내	PFV5	1.36	0.70	1.03	0.25	0.19	0.22
자소엽C 1년 이상	PFV6	2.01	1.1	1.55	0.29	0.22	0.26

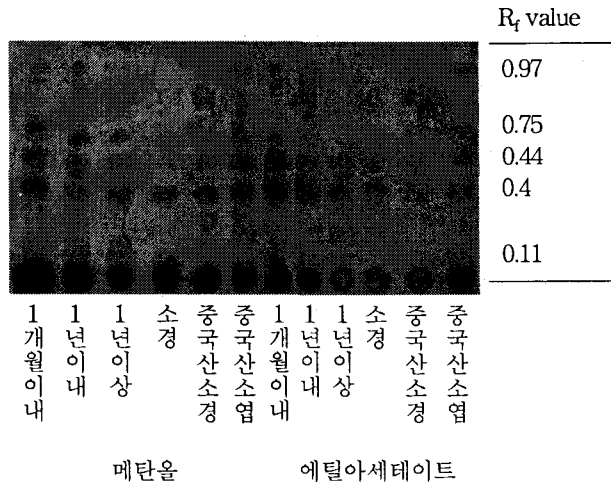


그림 1. 자소엽의 비극성조건에서의 TLC 패턴

R<sub>f</sub> value는 이동한 용매에 대한 sample band의 상대적 위치를 나타낸 값이며, 위의 조건에서의 TLC pattern은 그림 1에서 나타내었다.

비극성 부분에서 확인 할 수 있는 성분의 수는 약 6개 정도이며, 채취 후 1개월 이내의 자소엽을 대조시료로 하였을 때 R<sub>f</sub> value 0.44와 0.4의 band는 모든 시료가 일치하는 반면, R<sub>f</sub> value 0.75에서는 소경, 중국산 소경을 제외한 시료에서 연두색의 band가 나타났고, R<sub>f</sub> value 0.11부근의 band는 대조시료인 채취 후 1개월 이내인 자소엽에서만 나타났다. 에틸아세테이트 추출 시료에서도 별다른 차이 없이 성분 함량만 약간 낮게 나타났다.

R<sub>f</sub> value는 이동한 용매에 대한 sample band의 상대적 위치를 나타낸 값이며, 위의 조건에서의 TLC pattern은 그림 2에 나타내었다.

중간 극성 부분에서 확인 할 수 있는 성분의 수는 약 3개이며, 채취 후 1개월 이내의 자소엽을 대조시료로 하였을 때 R<sub>f</sub> value 0.44에서 채취 후 1개월 이내의 자소엽, 1년 이내의 자소엽, 1년 이상의 자소엽이 연두색의 band를 나타냈고, 자소경과 중국산 자소경, 중국산 자소엽에서는 없거나 아주 작은 양이 나타났다. 메탄올 추출물과 에틸 아세테이트 추출물간의 차이는 거의 없었다.

b) 중간 극성 조건에서의 TLC 패턴 분석

TLC 분석 조건  
 Mobile phase > Acetone : Chloroform = 1 : 1  
 Stationary phase > Kieselgel 60 F<sub>254</sub>(Merck),  
 HPTLC용 silica plate  
 Development temp. : room temperature  
 Detection reagent > 10% sulfuric acid  
 Detection method : 100°C dry

c) 극성조건에서의 TLC 패턴 분석

TLC 분석 조건  
 Mobile phase > Butanol : Methanol : water =  
 4.5 : 1 : 1  
 Stationary phase > Kieselgel 60 F<sub>254</sub>(Merck),  
 HPTLC용 silica plate  
 Development temp. : room temperature  
 Detection reagent > 10% sulfuric acid  
 Detection method : 100°C dry

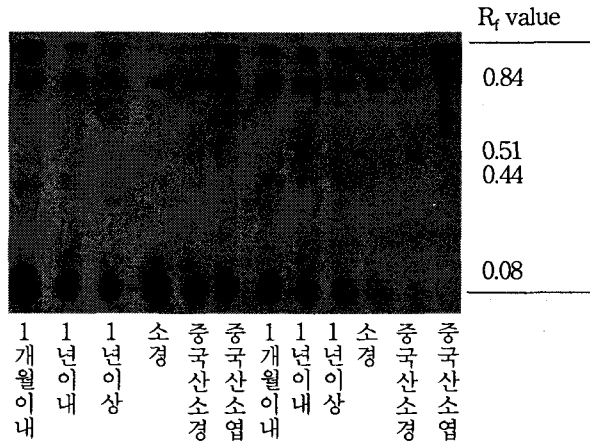


그림 2. 자소엽의 중간극성에서의 TLC 패턴

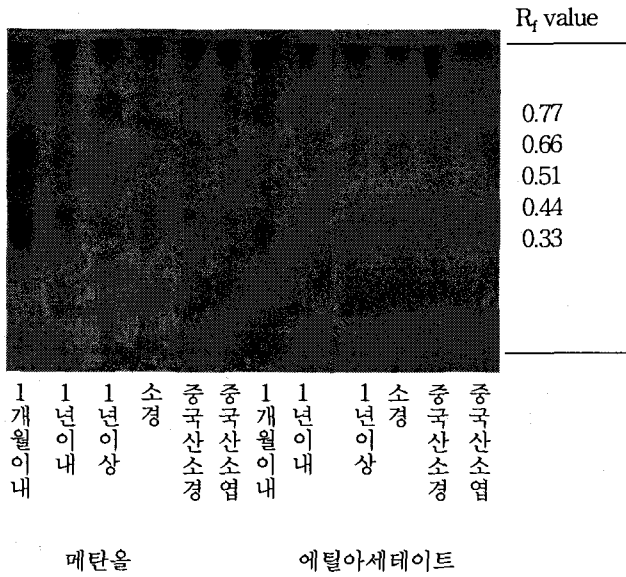


그림 3. 자소엽의 극성조건에서의 TLC 패턴

R<sub>f</sub> value는 이동한 용매에 대한 sample band의 상대적 위치를 나타낸 값이며, 위의 조건에서의 TLC pattern은 그림 3에 나타내었다.

극성 부분에서 확인 할 수 있는 성분의 수는 5개이며, 채취 후 1개월 이내의 자소엽을

R<sub>f</sub> value 0.77에서는 1개월 이내, 1년 이내, 1년 이상 자소엽에서 연두색 band가 나타났고, R<sub>f</sub> value 0.66에서는 1개월 이내, 1년 이내 자소엽에서 갈색 band를 나타냈고, R<sub>f</sub> value 0.33에서는 채취 후 1개월 이내의 자소엽과 자소경에

서만 band를 나타냈다. 전체적으로 볼 때 1개월 이내, 1년 이내, 1년 이상 자소엽과 자소경, 중국산 자소경, 중국산 자소엽의 유사성은 낮으며 성분함량 면에서도 1개월 이내, 1년 이내, 1년 이상된 자소엽이 더 높게 나타났다.

#### IV. 결론

1) 자소엽의 패턴분석결과, 평균함은 화순산 자소엽A 2.0, 중국산 자소엽 0.48, 화순산 자소경 0.27, 중국산 자소경 0.22, 화순산 자소엽B 1.61, 화순산 자소엽C 2.30으로 1년 이상된 화순산 자소엽C가 가장 높았다.

2) 메탄올 추출물에서 당산사를 대조생약으로 하여 분석한 결과, 산술평균은 화순산 자소엽A 9.0, 중국산 자소엽 1.63, 화순산 자소경 0.50, 중국산 자소경 0.39, 화순산 자소엽B 12.27, 화순산 자소엽C 18.05로 1년 이상된 화순산 자소엽C가 가장 높았다.

3) 메탄올 추출물에서 자소엽A를 대조생약으로 하여 분석한 결과, 유사도에서 중국산 자소엽 31.7 %, 화순산 자소경 7.4 %, 중국산 자소경 6.2 %, 화순산 자소엽B 14.6 %, 화순산 자소엽C 6.8 %이었으며, 대응도는 중국산 자소엽 55.6 %, 화순산 자소경 22.2 %, 중국산 자소경 22.2 %, 화순산 자소엽B 100 %, 화순산 자소엽C 10.0% 로 나타났다.

4) 에틸아세테이트 추출물에서 자소엽을 대조생약으로 하여 분석한 결과, 산술평균은 화순산 자소엽A 9.0, 중국산 자소엽 3.66, 화순산 자소경 0.66, 중국산 자소경 1.3, 화순산 자소엽B 4.9, 화순산 자소엽C 7.8로 1년 이상된 화순산 자소엽C가 가장 높았다.

5) 에틸아세테이트 추출물에서 자소엽A를 대조생약으로 하여 분석한 결과, 유사도에서 중국산 자소엽 35.2 %, 화순산 자소경 4.0 %, 중국산 자소경 7.4 %, 화순산 자소엽B 13.3 %,

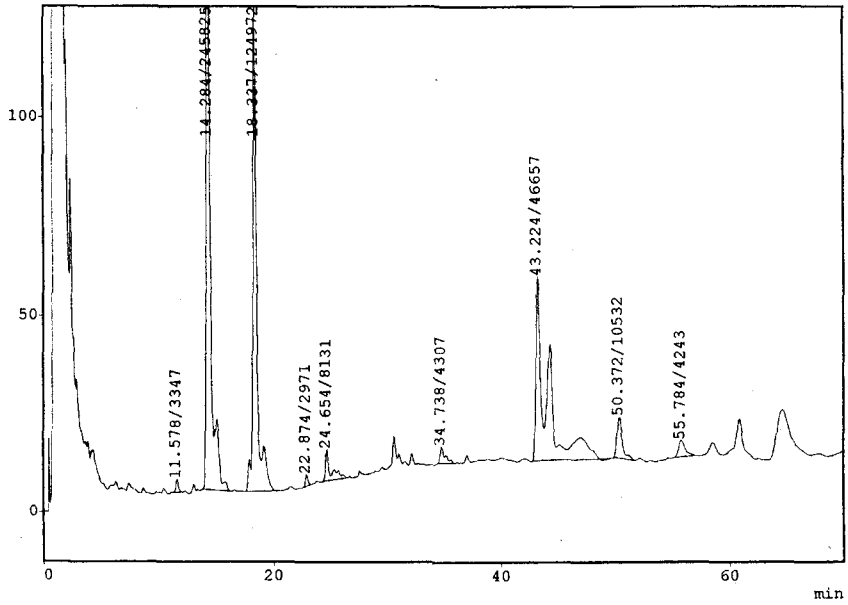
화순산 자소엽C 11.6 % 이었으며, 대응도는 중국산 자소엽 13.3 %, 화순산 자소경 22.2 %, 중국산 자소경 55.6 %, 화순산 자소엽B 77.8 %, 화순산 자소엽C 77.8 % 로 나타났다.

결론적으로 1년 이상된 화순산 자소엽이 가장 성분 함유량이 많은 것으로 판단되었다.

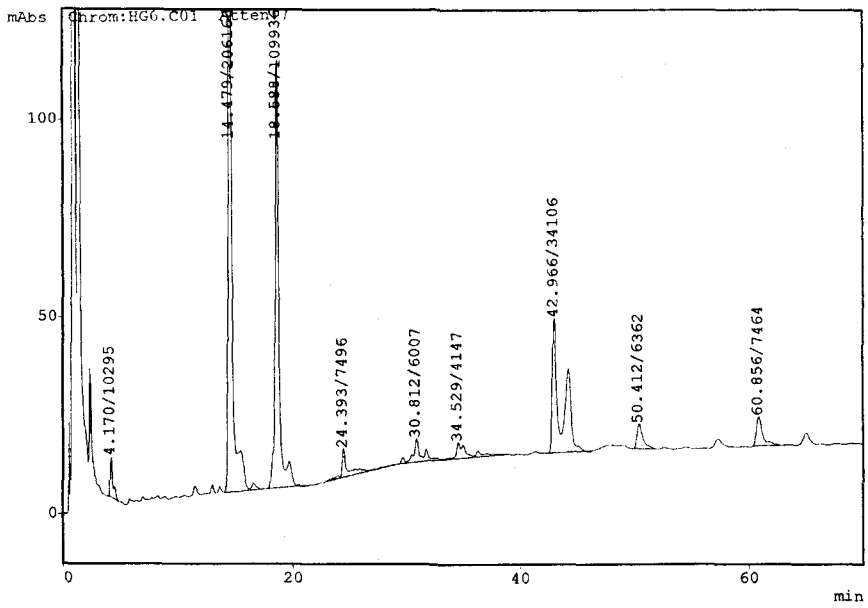
#### 참고 문헌

1. Ragazinskiene O, Seinauskiene E, Janulis V, Jankauskaite L, Milasius A, The influence of meteorological factors on growth and vegetation process of *Perilla frutescens*(L.) Britton in Lithuania. *Medicina(Kaunas)*. 42:667-72, 2006
2. 전국한의학대학교 공동교재편찬위원회, 본초학, 영림사, 2004
3. Makino T, Furuta Y, Wakushima H, Fujii H, Saito K, Kano Y. Anti-allergic effect of *Perilla frutescens* and its active constituents. *Phytother Res*. 17, 240-3, 2003
4. Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. Inhibitory effect of *Perilla* leaf extract and luteolin on mouse skin tumor promotion. *Biol Pharm Bull*. 26(4):560-3, 2003
5. Yamamoto H, Ogawa T, Antimicrobial activity of *Perilla* seed Polyphenols against Oral Pathogenic Bacteria. *Bio-science, Biotechnology, and Biochemistry*. 66, 921-924, 2002
6. Korotkich I, Senikiene Z, Simoniene G, Lazauskas R, Laukeviciene A, Kevelaitis E. Inotropic and lusitropic effects of *Perilla frutescens*(L.) Britton extract on the rabbit myocardium. *Medicina(Kaunas)*.

- 42(5) : 406-12, 2006
7. Honda G, Koezuka Y, Kamisako W, Tabata M. Isolation of sedative principles from *Perilla frutescens*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 34(4) : 1672-7, 1986
  8. Simoniene G, Jurkstiene V, Jankauskiene K, Gailys V, Kevelaitis E, Venskutonis PR. The influence of common perilla (*Perilla frutescens*(L.) Britton) on non-specific cell-mediated immunity--phagocytosis activity, *Medicina(Kaunas)*. 41, 1042-7, 2005
  9. Makino T, Ono T, Muso E, Honda G, Sasayama S. Suppressive effects of *Perilla frutescens* on spontaneous IgA nephropathy in ddY mice. *Nephron*. 83(1) : 40-6, 1999
  10. Luteolin inhibits LPS-stimulated inducible nitric oxide synthase expression in BV-2 microglial cells. Kim JS, Lee HJ, Lee MH, Kim J, Jin C, Ryu JH. *Planta Med*. 72(1) : 65-8, 2006
  11. Kim DS, Kim HR, Woo ER, Hong ST, Chae HJ, Chae SW. Inhibitory effects of rosmarinic acid on adriamycin-induced apoptosis in H9c2 cardiac muscle cells by inhibiting reactive oxygen species and the activations of c-Jun N-terminal kinase and extracellular signal-regulated kinase. *Biochem Pharmacol*. 70(7) : 1066-78, 2005
  12. Ko WC, Shih CM, Leu IJ, Chen TT, Chang JP. Mechanisms of relaxant action of luteolin in isolated guinea pig trachea. *Planta Med*. 71(5) : 406-11, 2005
  13. Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens*. Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. *Biol Pharm Bull*. 25(9) : 1197-202, 2002
  14. Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Sanbongi C, Kato Y, Osawa T, Yoshikawa T. Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide(LPS)-induced liver injury in D-galactosamine-sensitized mice. *Free Radic Biol Med*. 15 ; 33(6) : 798-806, 2002



Chr. 1 The typical Chromatogram of MeOH-extracted Perilla frutescens.



Chr. 2 The typical chromatogram of EtOAc-extracted Perilla frutescens.