

자생종과 재배종 고본의 성분함량 비교

이혜원* · 최지현** · 박소영* · 추병길* · 천진미* · 이아영* · 김호경*†

*한국한의학연구원, **진주산업대학교

Constituents Comparison of Components in Native and Cultivated Species of *Angelica tenuissima* Nakai

Hye Won Lee*, Ji Hyun Choi**, So Young Park*, Byung Kil Choo*, Jin Mi Chun*, A Yeong Lee*, and Ho Kyoung Kim*†

*Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea.

**Jinju National University, Jinju 660-758, Korea.

ABSTRACT : The root of *Angelica tenuissima* Nakai (Umbelliferae) has been used in traditional medicines of Korea as a headache, common cold and a fever remedy. *A. tenuissima* contains ferulic acid and various compounds of essential oil group such as limonene, 3-butylidenephthalide, γ -terpinene, neocnidilide, ligustilide, senkyunolide and neocnidilide. This study carried out to compare the contents of ferulic acid, z -ligustilide and n -butylidenephthalide between native and cultivated species of *A. tenuissima* by HPLC. The average contents of ferulic acid, z -ligustilide and n -butylidenephthalide indicated that native species (9 samples) were 0.060%, 0.616%, 0.025% and cultivated species (15 samples) were 0.037%, 0.141%, 0.029%, respectively. All samples were collected from different places in Korea.

Key Words : *Angelica tenuissima*, Ferulic acid, n -Butylidenephthalide, z -Ligustilide

서 언

고본(藁本)은 산형과(Umbelliferae)에 속한 다년생 초본인 고본 *Angelica tenuissima* Nakai (*Ligusticum tenuissimum* Kitagawa) 또는 중국고본 *Ligusticum sinense* Oliv. 및 요고본 *Ligusticum jeholense* Nakai et Kitagawa의 근경과 근을 건조한 것으로 대한약전외한약(생약)규격집(식품의약품안전청, 2002)에 수재되어 있지만 예로부터 우리나라에서는 고본 *Angelica tenuissima* Nakai의 뿌리를 기원식물로 하고 있으며 우리나라 각지의 고산에 자생하거나 각지에서 재배되고 있다(식품의약품안전청, 2002; 한의과대학 본초학 편집위원회, 2005). 고본의 정유는 진통, 진정, 해열, 항염증 작용이 있어 한의학적으로 신온(辛溫)한 성미로 발산(發散), 산한지통(散寒止痛) 작용이 좋으며 외감성 두통, 발열, 해수, 가래 콧물에 처방한다(육 등, 1992; 한의과대학 본초학 편집위원회, 2005).

고본의 뿌리에는 α -thujene, α -pinene, β -pinene, camphene, sabinene, bergapten, myrcene, limonene, γ -terpinene, isoborneol, verbenone, caryophyllene, piperitone, undecanal, carvacrol, β -elemene, β -caryophyllene, neocnidilide, ligustilide, senkyu-

nolide, scopoletin, anthriscinol, β -selinene, 3-butylidenephthalide, sedanenolide, neocnidilide 등의 정유성분이 많이 함유되어 있으며(Park *et al.*, 1997; Yook *et al.*, 1997) 과실에는 coumarin계 물질인 iso-imperatorin, prangolarin 등의 성분이 보고된바있다(육 등, 1992).

고본의 약리작용 natural oil은 뇌허혈에 의한 저산소증 상태에서 생존을 증가를 가져온다고 알려져 있고(Zhu, 1998) phthalide 계열의 화합물은 자궁근의 수축반응을 억제하는 것으로 보고(Tang & Xu, 1992)되었고, 그 중 butylidenephthalide는 비특이적 항경련, 혈관이완, 진정, 혈전억제, 항암작용 등이 알려져 있다(한방약리약 교재편찬위원회, 2005). 또한, ferulic acid는 소염, 진정, 항산화 작용, z -ligustilide는 진정, 항암효과 및 쥐의 동맥평활근의 증식 억제효과 및 choline acetyltransferase를 증대시킴으로써 Alzheimer's disease 등에 효과가 보고된 바 있으며(Kim *et al.*, 2000; 김, 2001; 김, 2004), 전뇌의 허혈성 손상에 대해 현저한 신경보호 효과가 있다는 최근의 보고도 있다(Kuang *et al.*, 2006).

천문동 자생종의 재배환경 및 생육특성(Kim *et al.*, 2003), 당귀속 식물의 유전학적 연구(Choi *et al.*, 2005), 고본의 혈

†Corresponding author: (Phone) +82-42-868-9502 (E-mail) hkkim@kiom.re.kr

Received April 16, 2008 / Revised June 05, 2008 / Accepted June 10, 2008

압저하 (Choi *et al.*, 2002)에 대한 연구는 보고된 바 있으나 고본의 자생종과 재배종의 성분비교 연구는 미비한 실태이다. 따라서 본 연구는 중국약전에 지표성분으로 수재되어 있는 ferulic acid와 소염, 혈관확장 등에 효과가 있고 주성분으로 보고된 (Kim *et al.*, 1989) z-ligustilide, n-butylidenephthalide 3성분에 대하여 자생종과 재배종의 성분함량 분석을 통하여 자생종과 재배종의 품질평가 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 고본 (藎本, *Angelica tenuissima* Nakai 24점)은 자생종과 재배종으로 구분하였으며 자생종은 9점을 수집하고, 재배종은 15점을 수집하여 정확히 동정한 후 세척하여 냉풍으로 건조한 것을 분쇄하여 성분함량 시험에 사용하였다.

2. 시약 및 기기

함량시험에 사용된 표준물질인 ferulic acid는 Wako사, z-ligustilide는 ChromaDex사, n-butylidenephthalide은 Alfa Aesar 제품을 사용하였고, 시료의 추출을 위해 사용한 메탄올은 J.T.Baker의 HPLC급 제품을 사용하였으며, 그 외의 시약들은 대정화금(주)의 특급시약을 사용하였다. 분석 기기로 사용된 HPLC는 Waters사의 2996 Photodiode Array Detector, 2695 Separations Module를 사용하였다.

3. 성분함량 분석

표준액의 조제는 ferulic acid, z-ligustilide, n-butylidenephthalide의 무게를 각각 131.5, 100.0, 73.5 μ g을 정밀하게 달아 HPLC용 메탄올 10 mL에 녹이고 이것을 stock solution으로 단계적으로 희석하여 검액으로 하였다. 각각의 표준용액 10 μ L를 HPLC로 분석하여 chromatogram의 면적을 구하고 농도와 면적에 따른 검량선을 작성하여 함량계산을 실시하였다.

검액의 조제는 분말화된 고본의 가루 약 2.0 g을 정밀하게 달아 메탄올 50 mL를 넣어 환류냉각기를 달고 수욕에서 2시간 가열하고 식힌 다음 여과한다. 잔류물에 메탄올 50 mL를 넣어 같은 방법으로 조작한 후 여액을 모두 합하여 메탄올을

넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 하였다 (Fig. 1). 각각의 검액을 10 μ L씩 HPLC로 분석하여 얻은 chromatogram의 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로부터 각각의 지표물질의 함량을 구하였고 검체에 대해 3회 반복하여 함량을 %로 산출하였으며 HPLC 분석조건은 Table 1에 나타내었다.

5. 통계처리

통계처리는 SPSS 12.0을 이용하고 결과는 Mean \pm S.D.로 표시하였으며, T-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

고본의 성분분리 및 정성분석에 대한 연구로 Kim & Chi (1989), 육 등 (1997), Ka *et al.* (2005)에 의해 보고된 바 있다. 그러나 HPLC를 통한 정량분석에 관한 연구는 아직 발표된 바 없어 본 연구에서는 자생종과 재배종으로 구분하여 고본의 주요효능을 나타내는 성분들에 대하여 HPLC를 이용한 다성분 동시분석을 통해 정량분석을 실시하였다.

표준액 ferulic acid, z-ligustilide, n-butylidenephthalide에 대하여 검량선을 작성한 결과 회귀방정식이 각각 $y = 39662.9495x + 5814.0025$, $y = 192354.1895x + 138657.9583$, $y = 48589.2352x - 101902.7826$ 이고 상관계수는 각각 0.9999, 0.9999, 0.9966으로 1에 근접하였다. Ferulic acid는 머무름시간 17.5분에서, z-ligustilide는 머무름시간 40.8분에서, n-butylidenephthalide는 머무름시간 41.7분대에서 분리되어 각각

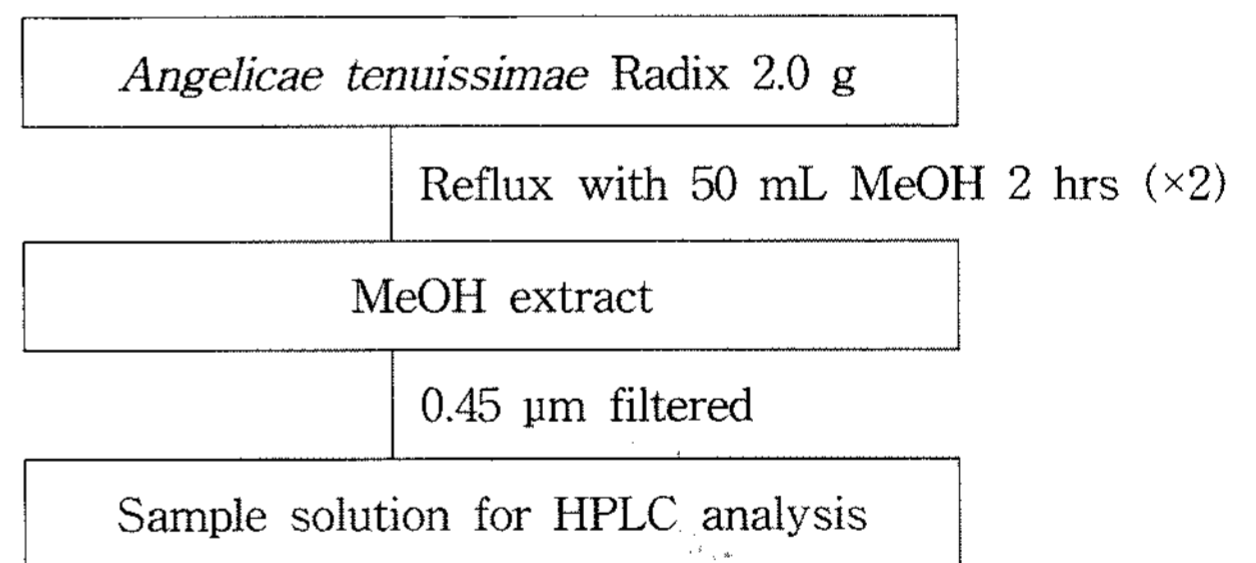


Fig. 1. Procedure for ferulic acid, z-ligustilide, n-butylidenephthalide analysis of *Angelicae tenuissima* Radix.

Table 1. The operating conditions of HPLC for the quantitative analysis fo ferulic acid, z-ligustilide and n-butylidenephthalide.

| Items | Conditions |
|------------------|---|
| Instrument | Waters 2996 Photodiode Array Detector Waters 2695 Separations Module |
| Column | Luna C18(2) (4.6 \times 250 mm, 5 μ m, Phenomenex) |
| Mobile phase | 0.25% acetic acid : methanol = 68 : 32 (3 min) \rightarrow 25 : 75 (36 min) \rightarrow 15 : 85 (46 min) \rightarrow 0 : 100 (90 min) (v/v) |
| Flow rate | 0.7 mL/min |
| Detection | UV 245 nm |
| Injection volumn | 10 μ L |

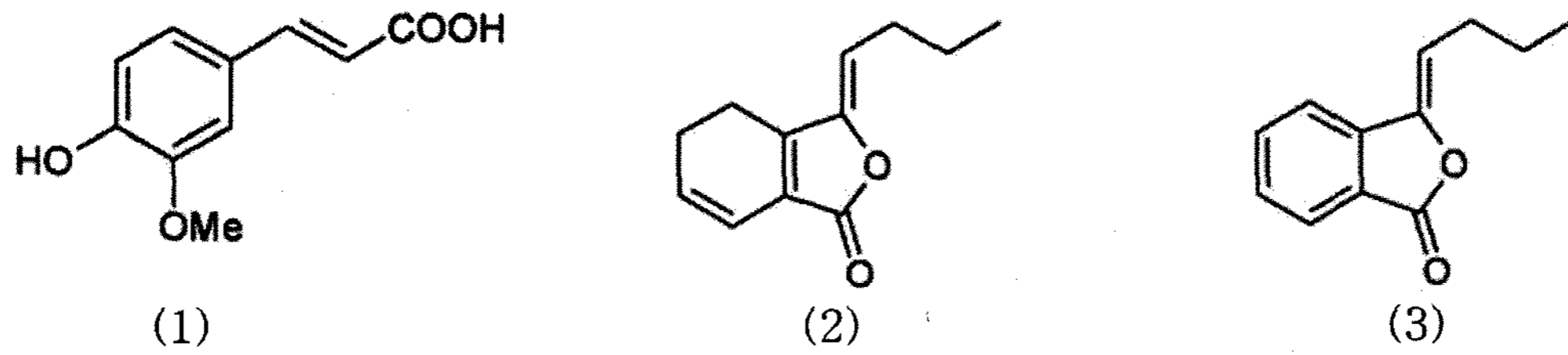


Fig. 2. Chemical structures of ferulic acid (1), z-ligustilide (2), n-butylidenephthalide (3).

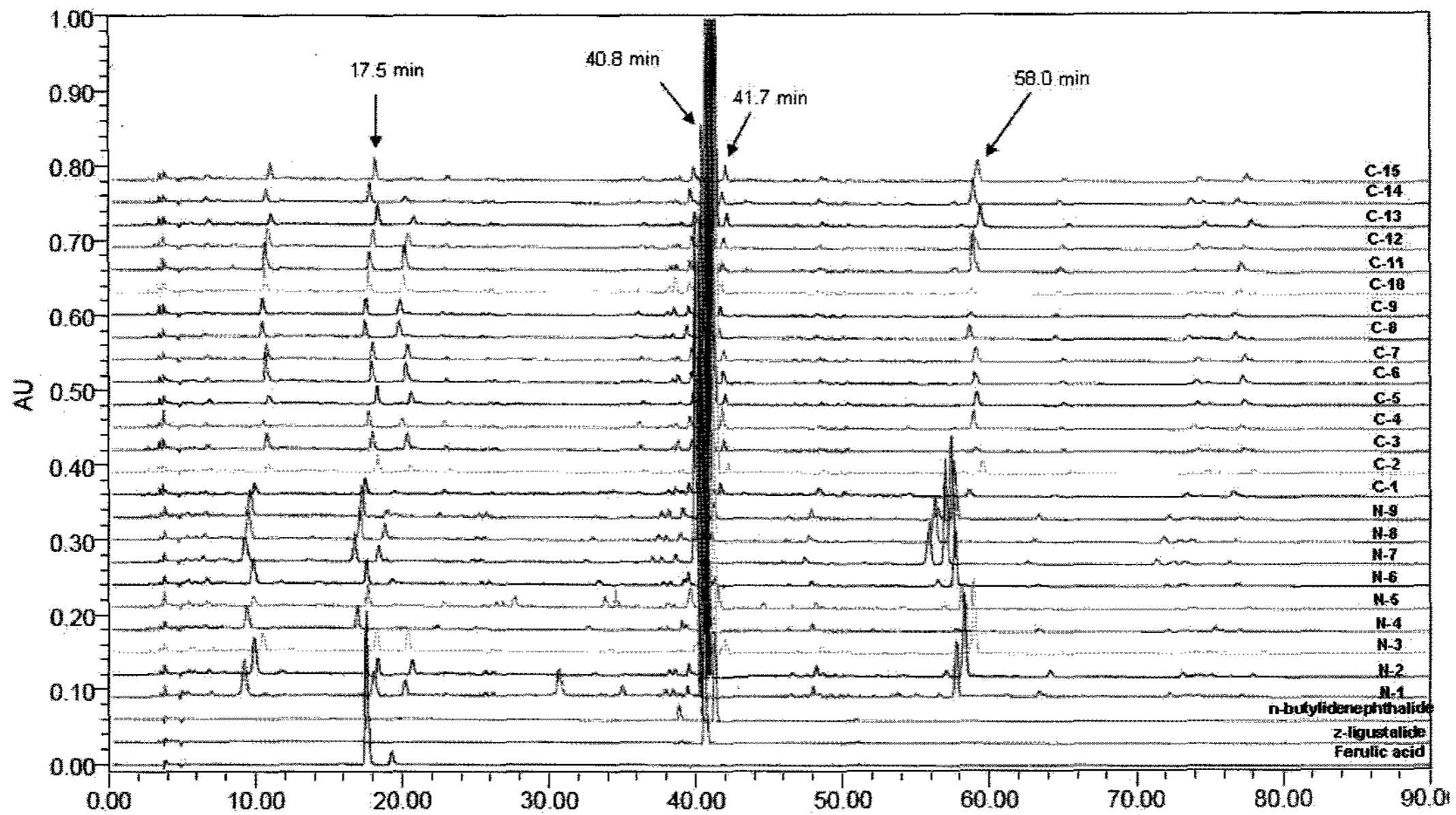


Fig. 3. HPLC chromatogram of *Angelicae tenuissimae* Radix from native and cultivated species (N-native, C-cultivated).

검출되었으며 모든 시료에서도 peak를 확인하였다 (Fig. 3).

Ferulic acid 함량 분석결과 자생종 9점의 평균은 0.060% (± 0.01)로 시료에 따라 0.045~0.075%의 범위 내에 있었으며 재배종 15점의 평균은 0.037% (± 0.004)로 시료에 따라 0.028~0.045%의 범위 내에 있었으며 자생종이 재배종보다 약 2배 높게 나타났다. z-Ligustilide의 함량분석 결과 자생종 9점의 평균은 0.616% (± 0.18)로 시료에 따라 0.340~0.845%의 범위 내에 있었으며 재배종 15점의 평균은 0.141% (± 0.02)로 시료에 따라 0.100~0.176%의 범위 내에 있었으며 자생종이 재배종보다 함량이 약 4배 높게 나타났다. z-Ligustilide의 함량이 자생종과 재배종 모두 높게 나타난 것은 Park *et al.*, (1997) 등이 국산 (*Angelicae tenuissimae* Radix)과 중국산 (*Ligustici Rhizoma*) 고본에서의 성분함량을 비교분석하여 z-ligustilide를 국산 고본의 주성분으로 설정한 결과와 일치하였다. n-Butylidenephthalide의 함량분석 결과 자생종 9점의 평균은 0.025% (± 0.01)로 시료에 따라 0.015~0.046%의 범위 내에 있었으며 재배종 15점의 평균은 0.029% (± 0.004)로 시료

에 따라 0.025~0.038%의 범위 내에 있었다. 고본의 자생종과 재배종의 ferulic acid, z-ligustilide, n-butylidenephthalide의 성분함량을 T-test로 통계분석 해본 결과, 자생종은 ferulic acid, z-ligustilide 성분함량이 재배종에 의해 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.01$). n-Butylidenephthalide 성분은 자생종, 재배종 모두 비슷한 수준으로 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Table 2).

고본에 대한 성분함량 연구보고는 미비하여 Zhang *et al.*, (1996), Zhang *et al.*, (2002) 등이 보고한 중국고본 (*Ligusticum sinense*)과 요고본 (*Ligusticum jeholense*)의 성분함량을 비교하면 ferulic acid의 함량은 중국고본 0.09%, 요고본 0.16%, z-ligustilide는 중국고본 0.04%, 요고본 0.87%를 나타낸 결과와 유사하였다.

자생종과 재배종의 HPLC pattern은 유사한 양상이었으나 그 함량에 있어서는 차이를 보였는데 특히 z-ligustilide의 경우 재배종보다 자생종의 함량이 약 4배 이상 높은 것을 확인할 수 있었다. 또한 머무름시간 58.0 min의 peak는 성분이 확인

Table 2. The contents of ferulic acid, z-ligustilide and n-butylidene phthalide from native and cultivated species.

| species | Contents (%) | | |
|----------------------------------|----------------|---------------|-----------------------|
| | ferulic acid | z-ligustilide | n-butylidenephthalide |
| native sample (n = 9) | 0.064 | 0.693 | 0.022 |
| | 0.074 | 0.845 | 0.024 |
| | 0.045 | 0.600 | 0.021 |
| | 0.051 | 0.638 | 0.028 |
| | 0.049 | 0.340 | 0.046 |
| | 0.054 | 0.352 | 0.015 |
| | 0.059 | 0.571 | 0.015 |
| | 0.075 | 0.728 | 0.023 |
| | 0.069 | 0.777 | 0.033 |
| Mean ± S.D. | 0.060 ± 0.01* | 0.616 ± 0.18* | 0.025 ± 0.01 |
| cultivated sample (n = 15) | 0.035 | 0.136 | 0.031 |
| | 0.034 | 0.140 | 0.027 |
| | 0.037 | 0.143 | 0.030 |
| | 0.028 | 0.116 | 0.038 |
| | 0.036 | 0.125 | 0.026 |
| | 0.044 | 0.154 | 0.032 |
| | 0.032 | 0.135 | 0.026 |
| | 0.037 | 0.131 | 0.025 |
| | 0.036 | 0.100 | 0.026 |
| | 0.045 | 0.113 | 0.029 |
| | 0.036 | 0.149 | 0.025 |
| | 0.036 | 0.159 | 0.029 |
| | 0.041 | 0.164 | 0.031 |
| 0.039 | 0.174 | 0.027 | |
| 0.039 | 0.176 | 0.032 | |
| Mean ± S.D. | 0.037 ± 0.004* | 0.141 ± 0.02* | 0.029 ± 0.004 |

* : p < 0.01; significantly correlated with native and cultivated species

되지 않았으나 함량에 있어 자생종과 재배종의 차이가 분명하였다. 이들 두 성분의 성분함량 및 활성연구 등을 이용한 심도 있는 연구가 진행되면 자생종 고본에 대한 우수 국내자원으로서의 개발을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

우리나라 공정서에 지표성분이 미수재 되어 있는 고본의 주요성분으로 ferulic acid, z-ligustilide, n-butylidenephthalide 3 성분을 설정하여 HPLC에 의한 성분함량을 분석함으로써 자생종과 재배종 고본의 품질을 비교하고자 하였다. 고본 3성분의 함량 분석결과 ferulic acid는 자생종 평균 0.060%, 재배종은 0.037%, z-ligustilide 함량은 자생종 0.616%, 재배종 0.141%, n-butylidenephthalide의 함량은 자생종 0.025%, 재배종 0.029%로 나타났다. 통계적으로 분석을 통하여 ferulic acid와 z-ligustilide은 자생종이 재배종보다 유의적으로 함량이

높게 나타났다. 특히, 고본의 주요 생리활성 성분으로 항염, 혈관확장 등에 효과가 있다고 알려진 z-ligustilide 함량이 재배종보다 자생종이 약 4배 정도 높게 나타났으나 생육년수, 재배 환경의 변화를 정확하게 파악하기 어려워 고본의 생육년수, 재배환경 연구가 수행되면 국내 자생 고본의 자원 개발 가능성이 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 보건복지부 우수한약개발연구 (E060003) 사업의 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Choi GP, Chung BH, Lee DI, Lee HY, Lee JH, Kim JD (2002) Screening of inhibitory activities on angiotensin converting

- enzyme from medicinal plant. Korean J. Medicinal Crop. 10(5):399-402.
- Choi HW, Koo DH, Lee WK, Kim SY, Sung JS, Seong NS, Shu YB, Bang JW** (2005) Cytogenetic analysis of seven *Angelica* species. Korean J. Medicinal Crop. 13(3):118-121.
- Kim DH, Park CB, Kang CH, Kim JY, Lim JR, Cho JS, Choi YG** (2003) Environment and growth characteristics of *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. Korean J. Medicinal Crop Sci. 11(3):212-215.
- Kim MH, Kim YG, Lee JH, Hong KP, Hong JK, Kong YJ, Lee HY** (2000) Screening of biologically active essential oils from *Ligusticum tenuissimum*, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28(2):97-104.
- Kim HS, Chi HJ** (1989) Studies on essential oils of plants of *Angelica Genus* in Korea(II). Essential oils of the root of *Angelica tenuissima*, Kor. J. Pharmacogn. 20(1):13-20.
- Hu L, Chen X, Kong L, Su X, Ye M, Zou H** (2005) Improved performance of comprehensive two-dimensional HPLC separation of traditional Chinese medicines by using a silica monolithic column and normalization of peak heights, J. chrom. A. 1092:191-198.
- Ka MH, Choi EH, Chun HS, Lee KG** (2005) Antioxidative activity of volatile extracts isolated from *Angelica tenuissima* roots, peppermint leaves, pine needles, and sweet flag leaves, J. Agric. Food Chem. 53(10):4124-4129.
- Li HB, Chen F** (2004) Preparative isolation and purification of chuanxiongine from the medicinal plant *Ligusticum chuanxiong* by high-speed count-current chromatography, J. chrom. A. 1047:249-253.
- Li HX, Ding MY, Yu JY** (2002) Separation and Identification of the Phthalic Anhydride Derivatives of *Ligusticum Chuanxiong* Hort by GC-MS, TLC, HPLC-DAD, and HPLC-MS, Journal of chromatographic science, 40:156-161.
- Li SL, Chan SSK, Lin C, Ling L, Yan R, Chung HS, Tam YK** (2003) Simultaneous Analysis of Seventeen Chemical ingredients of *Ligusticum chuanxiong* by On-Line High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector-Mass Spectrometry, Planta Med. 69:445-451.
- Lu GH, Chan K, Chan CL, Leung K, Jiang ZH, Zhao ZZ** (2004) Quantification of ligustilides in the roots of *Angelica sinensis* and related umbelliferous medicinal plants by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry, J. chrom. A. 1046:101-107.
- Kuang X, Yao Y, Du JR, Liu YX, Wang CY, Qian ZM** (2006) Neuroprotective role of *z*-ligustilide against forebrain ischemic injury in ICR mice. Brain Research. 1102:145-153.
- Park HK, Lee SI, Lee SH, Park HM, Rhee JS** (1997) A study on the qualitative and quantitative analysis of essential oil in *Angelica tenuissima* Radix or *Ligustici rhizoma*. Korean J. Food sci. Technol. 29(2):189-193.
- Ru Y, Song LL, Hoi SC, Yun KT, Ge L** (2005) Simultaneous quantification of 12 bioactive components of *Ligusticum chuanxiong* Hort. by high-performance liquid chromatography, Pharm Biomed Anal. 37:87-95.
- Tang CK, Xu QY** (1992) Effects of natural oil of *Ligusticum sinense* Oliv. on anoxia, Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 17:745-746, 764.
- Yook CS, Kang CK, Inn MK, Kim KO, Kim CW** (1997) The essential oils of *Ligusticum tenuissimum* Roots. Yakhak Hoeji. 41(2):27-30.
- Zhang H, Shen P, Cheng Y** (2004) Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicine Si-Wu-Tang by HPLC coupled with DAD and ESI-MS, J. chrom. A. 34:705-713.
- Zhang JL, HE XF, Zhou ZH** (1996) HPLC determination of five constituents in plants of Genus *Ligusticum*, Acta Pharmaceutica Sinica, 31(8):622-625.
- Zhang JL, Zhou ZH, Chen RY, Xie FZ, Cheng GF, Yu DQ, Zhou TH** (2002) Study on chemistry and pharmacology of genus *Ligusticum*, China. pharm. J. 37(9):654-657.
- Zhu YP** (1998) Chinese materia medica chemistry, Pharmacology and applications. Harwood Academic Publishers, The Netherlands, p. 72-73.
- 김호철** (2004) 한약약리학, 집문당, 서울, p. 77-79, 318-320.
- 김민희** (2001) 고본 정유성분의 생리활성 고찰, 강원대학교 박사 학위논문, p. 3-10.
- 식품의약품안전청** (2002) 대한약전외한약(생약)규격집, 동원문화사, 서울, p. 62.
- 식품의약품안전청** (2002) 대한약전 제8개정, 약업신문, 서울, p. 1654-1656.
- 육창수, 유기욱, 김형근, 심재호** (1992) 韓藥學 II, <기원, 약리, 처방, 임상응용>, 광명의학사, 서울, p. 498-499.
- 한방약리학 교재편찬위원회** (2005) 한방약리학, 신일상사, 서울, p. 129-130.
- 한의학대학 본초학 편집위원회** (2005) 본초학, 영림사, 서울, p. 167-168
- 國家藥典委員會** (2005) 中和人民共和國藥典, 化學工業出版社, 北京, p. 263-264.