

보골지와 염초보골지의 성분 정량 분석

김유진 · 심상희*
영남대학교 생명공학부

Quantitative Analysis of Chemical Constituents in Psoraleae Semen and the Processed Psoraleae Semen

Yu Jin Kim and Sang Hee Shim*

School of Biotechnology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, South Korea

Abstract – A reversed phase HPLC method was developed to determine the major components of *Psoralea corylifolia*, psoralen, isopsoralen, bakuchiol, and corylin. Quantitative analysis of the above compounds was performed by C-18 column using a gradient solvent system of acetonitrile and water with UV detection at 310 nm. The comparison of contents of psoralen, isopsoralen, bakuchiol, and corylin in psoraleae semen and the processed psoraleae semen was also investigated. In result, processed psoraleae semen showed more amounts of psoralen, isopsoralen, and corylin with 1.6, 4.3, and 1.3 mg/g, respectively, except bakuchiol (66.98 mg/g) while psoraleae semen showed 0.53, 1.56, 1.0, and 76.3 mg/g of psoralen, isopsoralen, corylin, and bakuchiol, respectively.

Key words – *Psoralea corylifolia*, quantitative analysis, HPLC, contents

보골지(*Psoralea corylifolia* Linn.)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 1년생 초본으로 파고지라고도 불리우며 개암풀의 열매를 말린 것이다. 보골지는 예로부터 신장을 보하고 양기를 크게 북돋아 주는 약재로 전해지며, 새벽설사나 남자 성기능 저하, 발기부전, 유정 등의 치료에 널리 응용되어 왔다. 또한 허리나 무릎이 냉하고 아픈 증상을 치료하며 냉한기침을 개선시키기도 하는 것으로 알려져 왔다.¹⁾ 현대의 약리학적 연구에 의하면, 보골지는 인체의 면역기능을 높여주는 작용이 있으며, 관상동맥의 혈류량을 개선하고 심장의 능률을 높이며 심혈관에 대한 뇌하수체 후엽소와 유산의 해로운 작용을 저하시키는 데에 좋은 효과가 있는 것으로 알려졌다.²⁾

염초보골지는 보골지를 수치한 것으로 보골지의 신찬온조(辛竈溫燥)한 성질을 완화시키고 약성을 신장으로 이끌어 보신(補腎)의 작용을 증강시켜, 허리통증, 무릎이 시리거나 냉습이 찼을 때 모든 저린 증상, 골절, 유노, 장결핵 등에 사용한다.³⁾

보골지 및 염초보골지의 주요성분으로는 psoralen,

isopsoralen, psoralidin 등과 같은 coumarins,⁴⁾ corylifolin, corylin과 같은 flavones,⁵⁻⁶⁾ BHT, bakuchiol, psoracorylifols 등과 같은 phenol성 물질들이 보고되어 왔다.⁷⁾ 또한 보골지로부터 psoralen과 isopsoralen을 분리하여 그의 함량을 조사한 연구⁸⁾와 포제 방법에 따른 위 두 성분의 함량 연구가 보고된 바 있다.⁹⁻¹⁰⁾ 그리고 보골지와 염초보골지의 정량시 험법 및 함량기준을 규정하고자 주성분으로서 포제 후에 변화하는 성분인 psoralen과 isopsoralen를 표준품으로 설정하여 포제 방법에 따른 이들의 성분함량 등을 분석한 논문도 보고된 바 있다.¹¹⁾

보골지를 수치하여 염초보골지로 변화시켰을 때 나타나는 성분 함량의 변화는 주로 보골지의 주성분으로 알려진 psoralen과 isopsoralen을 대상으로 한 것이었다. 그러나 본 연구에서는 위의 두 성분을 포함하여 다른 주요 성분들 즉 bakuchiol 및 corylin을 대상으로 이들의 HPLC 분석방법을 설정하고 또한 보골지와 보골지를 수치했을 때의 성분 함량의 차이를 비교분석하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 보골지와 염초보골지는 대

*교신저자(E-mail): shshim29@ynu.ac.kr
(Tel): +82-53-810-3028

구약전시장에서 구입하여 사용하였고, 표본은 영남대학교 생명공학부 천연물화학 실험실에서 보관하고 있다.

기기 및 시약 - 실험에 사용된 HPLC는 Agilent사의 1200 series를 사용하였고, column은 Luna C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm, Phenomenex)을 사용하였다. HPLC 용매는 Fisher Science사의 HPLC급 시약을 사용하였다. 표준품인 psoralen, isopsoralen, bakuchiol 및 corylin은 앞서 발표된 논문¹²⁾에서 분리한 것들을 사용하였다.

HPLC 분석을 위한 표준액의 조제 - 각각의 표준품 psoralen, isopsoralen, bakuchiol 및 corylin (Fig. 1)을 1.0 mg씩 정확히 측정하여 HPLC용 acetonitrile 500 μl에 녹이고 이것을 stock solution으로 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0 μg/μl의 농도로 단계적으로 희석하여 이 중 3개의 농도를 각 표준품별 표준용액으로 사용하였다.

검액의 조제 - 보골지 및 염초보골지 시료는 앞서 연구 보고된 논문¹³⁾에서 추출 및 분획한 것 중 농축된 CHCl₃ 분획을 사용하였다. 각각 1.5 mg씩 정확히 측정하여 HPLC용 MeOH 50 μl에 녹인 것을 검액으로 사용하였다.

HPLC 분석조건 - 보골지와 염초보골지의 주요성분인 psoralen, isopsoralen, bakuchiol 및 corylin의 분석을 위해 column은 Luna C₁₈(4.6×250 mm, 5 μm, Phenomenex)을 사용하였고, 검출기는 UV 310 nm, 이동상으로는 acetonitrile 과 물을 사용하여 gradient profile로 하였고, 유속은 1.0 ml/min으로 하였다.

Time (min)	Flow (ml/min)	Mobile phase	
		Water (%)	Acetonitrile (%)
0	1.0	80	20
40	1.0	20	80
45	1.0	0	100
50	1.0	0	100

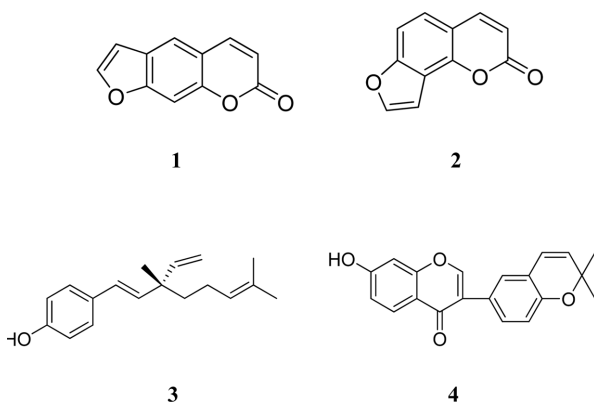


Fig. 1. Chemical structures of psoralen (1), isopsoralen (2), bakuchiol (3), and corylin (4).

표준품의 검량선 작성 및 직선성 검토 - 검량선을 얻기 위해 각 표준액에 대하여 확립된 HPLC 조건으로 5개의 농도(0.125, 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0 μg/μl) 중 3개의 농도에서 시험을 실시하였으며 regression equation을 $y = ax + b$ (y 는 peak 면적, x 는 시료의 농도)의 형태로 검량선을 작성하였다. 작성된 검량선은 r^2 의 값을 통하여 직선성을 판단하였으며 r^2 의 값이 0.99이상인 경우 성분의 함량을 평가하는 검량선으로 사용하였다.

검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) 측정 - 검량선을 작성할 때 사용된 각 표준액의 농도를 이용하여 표준편차(SD)를 구하고 regression equation의 기울기(Slope)로 나눈 값을 이용하여 LOD와 LOQ를 측정한다.

검출한계(LOD) = $3.3 \times (\text{SD of the response} / \text{slope of the calibration curve})$

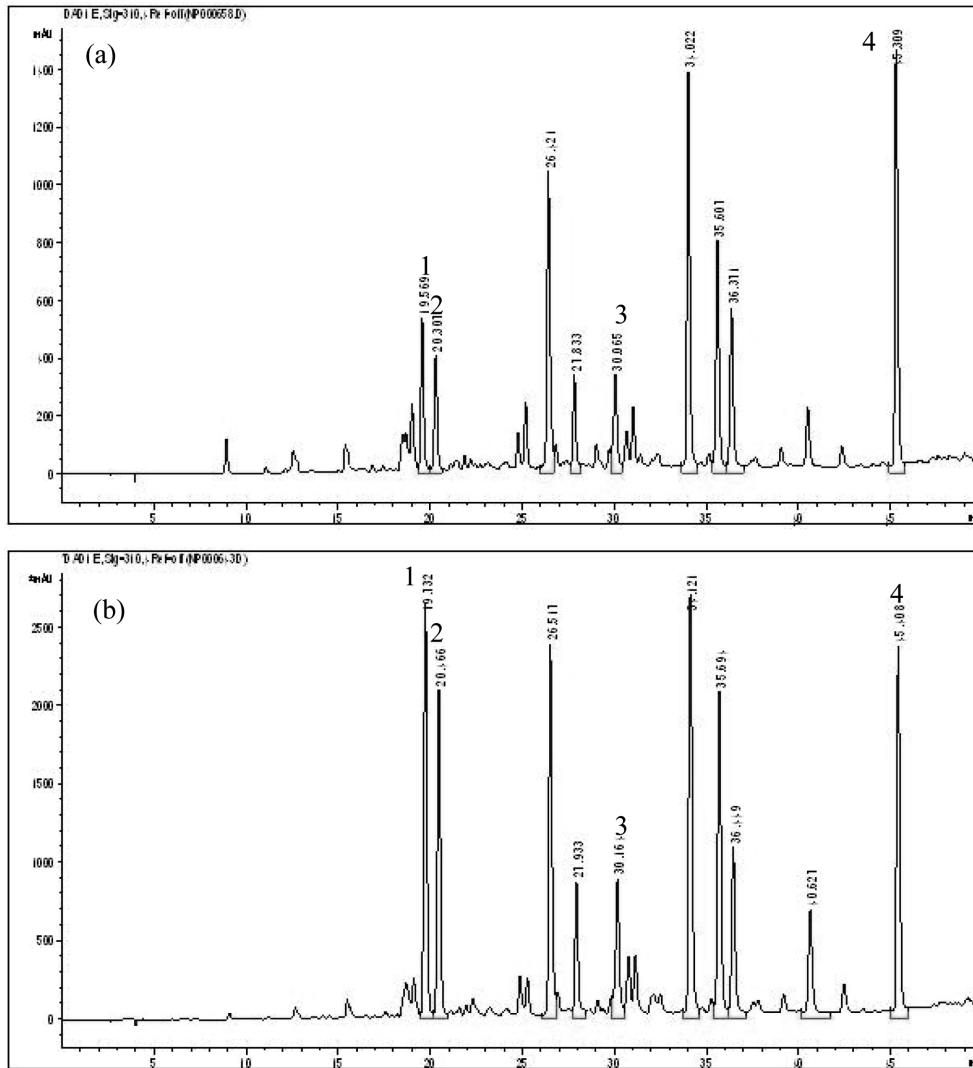
정량한계(LOQ) = $10 \times (\text{SD of the response} / \text{slope of the calibration curve})$

보골지 및 염초보골지의 성분함량 비교 - 보골지 및 염초보골지의 검액을 10 μl씩 확립된 HPLC 조건으로 분석하여 각각의 표준품에 해당하는 peak 면적을 regression equation의 y 값에 대입하여 각 화합물의 농도를 구하여 비교한다.

결과 및 고찰

분석조건의 확립 - HPLC의 분석조건으로는 Phenomenex C₁₈ column을 이용하여 다양한 용매조성 및 파장에 대하여 분석조건을 검토한 결과 UV 310 nm 검출파장에서 위에 기술한 acetonitrile과 물의 gradient profile을 유속 1.0 ml/min으로 용출시켰을 때 retention time 약 19.35, 20.38, 30.11, 45.36분에서 각각 isopsoralen, psoralen, corylin, bakuchiol의 peak를 양호하게 분리할 수 있었다 (Fig. 2). 이와 같은 HPLC 분석방법으로 보골지 및 염초보골지 CHCl₃ 분획에 함유된 주요물질의 함량을 비교, 분석하였다.

검량선 측정 및 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ) - 보골지 및 염초보골지의 주요성분인 psoralen, isopsoralen, bakuchiol 및 corylin을 각각 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0 μg/μl의 농도별로 제조하고 이 중 3개의 농도를 이용하여 확립된 HPLC 조건으로 분석을 실시하였다. x 축은 화합물의 농도, y 축은 peak 면적으로 하여 검량선을 작성한 결과, 직선성(r^2)이 각각 0.9994, 0.9998, 0.9996 및 0.9992인 상관관계를 나타내어 직선성이 인정되었다. 검출한계는 각각 0.045, 0.25, 4.07 및 0.076 μg/mL로 미량의 성분까지 검출 가능하였고, 정량한계는 각각 0.14, 0.76, 12.35 및 0.23 μg/mL의 성분까지 정량 가능하였다 (Table I).



1 : isopsoralen, 2 : psoralen, 3 : corylin, 4: bakuchiol

Fig. 2. HPLC chromatogram of CHCl₃ fractions from *Psoralea corylifolia* (a) and processed *Psoralea corylifolia* (b).

Table I. Characteristic parameters and linear range, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) of calibration curve of compounds from processed *Psoralea corylifolia*

Compound	Linear range (µg/µl)	Regression equation ^a y=ax+b		Correlation coefficient (r ²)	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
		Slope(a)	Intercept(b)			
Psoralen	0.25–1	27662.4657	378.52148	0.9994	0.045	0.14
Isopsoralen	0.125–2	13089.0909	-134.62859	0.9998	0.25	0.76
Bakuchiol	0.25–2	769.016097	22.314277	0.9996	4.07	12.35
Corylin	0.25–1	16482.755	300.7627	0.9992	0.076	0.23

^ay = ax + b, where y is the peak area and x is the concentration (µg/µl)

보골지 및 염초보골지의 성분함량 비교 - 확립된 HPLC 조건에서 동일한 양 10 µl로 분석한 보골지 및 염초보골지 CHCl₃ 분획의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 각각의 화합

물에 해당하는 peak 면적을 regression equation의 y값에 대입하여 psoralen, isopsoralen, bakuchiol 및 corylin의 농도를 구한 결과, 보골지의 CHCl₃ 분획에 각각 0.53, 1.56, 76.3 및

Table II. Comparison of the contents of major components from processed psoraleae semen and psoraleae semen

Compound	processed <i>Psoraleacorylifolia</i> (mg/g)	<i>Psoralea corylifolia</i> (mg/g)
Psoralen (1)	1.6	0.53
Isopsoralen (2)	4.3	1.56
Bakuchiol (3)	66.9	76.3
Corylin (4)	1.3	1.0

1.0 mg/g, 염초보골지의 CHCl₃ 분획에 각각 1.6, 4.3, 66.9 및 1.3 mg/g 의 농도로 존재함을 확인하였다 (Table II).

결 론

본 연구에서는 보골지 및 염초보골지의 성분에 대한 연구로 성분 함량을 비교, 분석하기 위해 주요성분인 psoralen, isopsoralen, bakuchiol, corylin을 표준품으로 HPLC를 이용하여 함량분석을 위한 최적의 HPLC 조건을 확립하였다. 확립된 HPLC 조건을 이용하여 보골지 및 염초보골지의 CHCl₃ 분획물을 분석 하였을 때 각 표준품에 해당하는 성분의 peak를 양호하게 분리할 수 있었다. 각각의 검액을 10 µl씩 HPLC로 분석하여 얻은 각 표준품에 해당하는 peak의 면적을 구하여 regression equation으로부터 보골지 및 염초보골지의 CHCl₃ 분획에 함유된 주요성분의 함량(mg/g)을 산출하였다. 그 결과 bakuchiol을 제외한 psoralen, isopsoralen, corylin의 함량이 보골지보다 염초보골지에서 더 높은 것으로 확인하여, 보골지를 수치 했을 때 성분의 함량이 대체로 더 증가함을 알 수 있었다.

사 사

이 논문은 2007년도 학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구 (KRF-2007-531-E00013)이며 이에 감사를 표합니다.

인용문헌

- Jiangsu New Medical College (1985) Dictionary of Traditional Chinese Herbs, 1178. Shanghai Science and Technology Publishing House, Shanghai.
- Wang, S. (2006) Research survey of pharmacological effects of Fructus Psoraleae. *Shizhen Guoyi Guoyao* **17**: 1081-1082.
- 신문출판공가 (1995) 중약대사전, 2782. 일중사, 서울.
- Khastgir, H. N., Duttagupta, P. C. and Sengupta, P. (1961) The structure of psoralidin. *Tetrahedron* **14**: 275-283.
- Gupta, G. K., Dhar, K. L. and Atal, C. K. (1978) Corylinal: A new isoflavone from seeds of *Psoralea corylifolia*. *Phytochemistry* **17**: 164.
- Suri, J. L., Gupta, G. K., Dhar, K. L. and Atal, C. K. (1978) Psoralenol: A new isoflavone from the seeds of *Psoralea corylifolia*. *Phytochemistry* **17**: 2046.
- Mehta, G., Nayak, U. R. and Dev, S. (1973) Meroterpenoids: *Psoralea corylifolia* Linn.-I. Bakuchiol, a novel monoterpene phenol. *Tetraheron* **29**: 1119-1125.
- Dong, N. T., Bae, K. H., Kim, Y. H., Hwang, G. S., Hwang, O. S., Kim, S. E. and Jong Seong Kang (2003) Quantitative determination of psoralen and angelicin from some medicinal herbs by high performance liquid chromatography. *Arch. Pharm. Res.* **26**(7): 516-520.
- Yang, B., Yai, S. and Cui, S. (1996) Comparison of ancient and modern processing methods for fructus Psoraleae, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **21**(9): 537-539.
- Tan, S., Wang, Y., Liu, G., Guo, D. and Han, J. (1995) Determination of psoralen and isopsoralen in tincture of fructus Psoraleae by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **20**(2): 99-100.
- Kim, H. K., Lee, H. W., Chun, J. M., Lee, A. Y. and Ko, B. S. (2004) Quantitative Analysis of Psoralen and Angelicin in the Psoraleae Semen and Processed Psoraleae Semen. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**(3): 179-183.
- Kim, Y. J., Lee, H. Park, E. and Shim, S. H. (2009) Inhibition of Human 20S Proteasome by Compounds from Seeds of *Psoralea corylifolia*. *Bull. Korean Chem. Soc.* **30**(8): 1867-1869.
- Shim, S. H. (2008) Proteasome Inhibition Activity of Psoraleae Semen and Processed Psoraleae Semen. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**(1): 56-59.

(2010년 1월 23일 접수)

1. Jiangsu New Medical College (1985) Dictionary of Traditional Chinese Herbs, 1178. Shanghai Science and Tech-