생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
41(2) : 141 ~ 146 (2010)

마황, 상륙 및 저령의 독성평가를 위한 성분분석 및 안정성 시험

뉴엔티퐁타오 · 트란만흥 · 토다오쿵 · 허정임[1] · 곽승준[2] · 김지명[2] · 강태석[2] · 이제현[3]
우미희 · 최재수[4] · 강삼식[5] · 배기환[6] · 민병선*
대구가톨릭대학교 약학대학, [1]안전성평가연구소, [2]국립독성과학원 독성연구부, [3]동국대학교 한의과대학,
[4]부경대학교 식품생명공학부, [5]서울대학교 약학대학, [6]충남대학교 약학대학

Analysis and Stability Test of the Extract from Ephedrae Herba, Phytolaccae Radix and Polyporus for Toxicity Study

Nguyen Thi Phuong Thao, Tran Manh Hung, To Dao Cuong, Jung-Im Huh[1], Seung Jun Kwack[2], Ji Myoung Kim[2], Tae Suk Kang[2], Je Hyun Lee[3], MiHee Woo, Jae Sue Choi[4], Sam Sik Kang[5], KiHwan Bae[6] and Byung Sun Min*

College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea
[1]Korea Institute of Toxicology, Daejeon 305-343, Korea
[2]Department of Toxicological Research, National Institute of Toxicological Research, Seoul 122-704, Korea
[3]College of Oriental Medicine, Dongguk University, Gyeongju 780-714, Korea
[4]Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyoung National University, Busan 608-737, Korea
[5]College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
[6]College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract – A simple and reliable reverse phase HPLC method was developed to determine pharmacologically active marker compounds of Ephedrae Herba, Phytolaccae Radix and Polyporus. The stability test of water-extract of three natural medicines were examined for six months. However, no significant change in the content of the marker compounds of each extract observed during the time of investigation.

Key words – Ephedrae Herba, Phytolaccae Radix, Polyporus, Water-extract, Stability test, HPLC

최근 세계적으로 식물자원을 이용한 고부가치 식, 의약품의 개발이 활발하게 시도되고 있으며 정부도 천연물신약 연구개발 촉진법을 통하여 이를 지원하고 있다. 천연물을 이용한 다양한 외국의 식, 의약품이 이미 건강 보조식품으로 유통되고 있으며 독일, 프랑스 같은 나라에서는 천연물 추출물 자체 또는 분획물 (은행잎, 겨우살이 등)을 이용하여 식, 의약품 개발로 거대한 시장을 창출하고 있다. 우리나라는 전통적으로 사용하는 각종 한약재 외에도 천연물의약품 및 건강기능성식품의 형태로 많은 생약이 사용되고 있다. 규격을 설정하여 관리하는 생약은 대한약전에 130종과 생약규격집에 385종으로 총 515종의 한약재가 수재되고 관리되고 있으나 이들의 인체에 대한 안전성 연구는 매우 미흡한 실정이다.[1)] 특히 마두령 (Aristolochiae Fructus)은 쥐방울과 (Aristolochiaceae)의 쥐방울덩굴(*Aristolchia contorta*) 과실로 뱀독의 해독제나 진통, 소염제 등으로 사용되었던 생약재이다. 마두령의 주성분은 aristolochic acid으로 알려져 있으며 최근 여러 동물 실험에서 발암성, 유전독성 및 신장독성이 확인되었고, 사람에게서도 aristolochic acid가 다량 함유된 다이어트 제재를 장기 복용한 경우 신장독성과 발암성이 보고되면서 생약재의 독성에 대한 관심이 높아지고 있어 생약에 대한 과학적이고 체계적인 안전성 평가자료 확보가 절실히 필요하다.[2-5)]

국립독성과학원에서는 국가의 독성물질 관리사업의 일환으로 생약의 일반독성시험 및 유전독성시험을 진행 중에 있다. 독성시험 결과와 이에 대한 과학적 근거 확보를 위해 시

*교신저자(E-mail) : bsmin@cu.ac.kr
(Tel) : +82-53-850-3613

험물질에 대한 신뢰성 및 재현성 있는 분석결과가 요구된다. 생약은 산지, 채집시기 등에 따라 원료생약의 유효성분 함량 및 품질 차이가 있고, 건조상태, 가공법에 따라 지표성분 등의 차이가 있어 원료생약에 대한 기준규격시험이 필요하며 규격화된 시료를 독성시험에 이용하여야 한다. 또한 생약은 건강식품, 의약품 보조제 등의 질병 예방을 위해 장기적으로 복용하는 경우, 안정성 확인 시험이 필수이며 안정성이 확보된 시료를 사용하여 독성 시험할 경우 신뢰할 수 있는 독성자료를 얻을 수 있다.

마황 (Ephedrae Herba)은 마황 (*Ephedra sinica*) 또는 동속식물 (*E. intermedia*, *E. equisetina*)의 초질경을 사용하며 alkaloid계 성분인 (-)-ephedrine을 함유하고 있으며 (+)-pseudoephedrine, ephedroxane, (-)-norephedrine, (-)-N-methylephedrine, (+)-N-methylpseudoephedrine, (+)-norpseudoephedrine 등이 부 alkaloid로 존재한다. 마황의 추출물은 항암작용과[6] 간질환보호 작용이[7] 알려져 있다. ephedrine에는 adrenaline과 비슷한 교감신경 흥분작용, dopamine양의 중추흥분 작용, 체중감소 작용, 심장박동 조절작용이 있고,[8] pseudoephedrine에는 뚜렷한 이뇨작용, ephedrine과 pseudoephedrine에는 같은 정도의 기관지 확장작용이 있고, ephedrine, pseudoephedrine, ephedroxane, pseudoephedroxane에는 항염증작용이 알려져 있다.[9] 상륙 (Phytolaccae Radix)은 자리공 (*Phytolacca esculentum*) 또는 미국자리공 (*P. americana*)의 뿌리를 말린 것으로 신경통 치료 및 이뇨제로 이용되었고, 한방에서는 종기를 완화시키거나 부종에 사용되었으나 민간에서 구황식물로 뿌리를 사용하는데 다량복용 시 심장독성, 저혈압, 장항진 운동에 의한 설사, 신부전 등의 보고가 있다.[10] 저령 (Polyporus)은 저령 (*Polyporus umbellatus*)의 균핵이다. 오리나무속 (*Alnus* spp.), 참나무속 (*Quercus* spp.) 및 자작나무속 (*Betula* spp.) 등의 뿌리에 부착된 균핵으로 sterol 계통 화합물과 다당체가 알려져 있고 주로 이뇨약으로 사용하고 있다.[11] 다당체는 항암력,[12] ergosterol 화합물은 TPA로 유도한 염증억제작용과[13] 암세포에 대한 세포독성이 보고되어 있다.[14]

본 연구는 마황, 상륙 및 저령 3종 생약을 대상으로 HPLC-UV를 이용하여 지표성분의 분석법을 확립하였으며, 확립된 분석법을 이용해 생약의 표준화된 추출물을 확보하고 실온과 냉장의 보관조건에서 지표성분의 변화를 확인함으로써 독성시험에 사용하는 생약 추출물의 안정성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 연구에 사용한 3종의 생약, 마황, 상륙 및 저령은 유통되는 생약을 기원별, 산지별로 구입하여 기원, 성상, 색상, 냄새 등을 기준으로 생약감별 자문위원회 (한국생명공학연구원, 이형규 박사; 충남대학교, 김영호 교수; 한국화학연구원, 유시용 박사; 충남대학교, 배기환 교수; 대구가톨릭대학교, 민병선 교수)의 감별을 거쳐 선별하였고 선정된 시료는 대구가톨릭대학교 약학대학 표본실에 보관되어 있다 (마황, CUD-3172-1; 상륙, CUD-1289-1; 저령, CUD-3173-1). 마황 (Ephedrae Herba), 상륙 (Phytolaccae Radix) 및 저령 (Polyporus) 모두 중국산을 사용하였다. 각 생약은 식품의약품안전청 고시 2003-17, 안전성 유효성심사 규정에 준한 표준탕제 제조법에 따라 열수추출하고 이를 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다.[15]

시약 및 기기 – ephedrine과 pseudoephedrine은 마황 (Ephedrae Herba)에서 3,4-dihydroxybenzaldehyde는 저령 (Polyporus)에서 분리하여 사용하였고, phytolaccoside B, phytolaccoside E 및 phytolaccoside I는 상륙 (Phytolaccae Radix)에서 분리한 화합물을 서울대학교 강삼식 교수님에게 제공받아 사용하였다. HPLC system은 Gilson사의 306 pump, 811C dynamic mixer, UV/VIS-156 detector, 231 XL sample injector 및 GILSON UniPoint data를 사용하였으며 column은 Agilent Technologies사의 Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μm, 4.6 × 150 mm)를 사용하였다. HPLC 용매는 Burdick & Jackson사의 MeOH 및 acetonitrile을 사용하였고, H_2O는 Milli-Q로 처리한 물을 사용하였다.

마황 지표물질 분리 – 마황 (Ephedrae Herba) 1 kg을 MeOH로 3시간 동안 3회 반복 환류냉각 열탕 추출하고 여과한 후 감압 농축하여 500 g의 MeOH 엑스를 얻었다. MeOH 엑스를 물 3 L로 현탁하고 2% HCl를 가해 pH 3으로 조절한 후 ether로 추출한다. 추출의 잔사를 NH_4OH를 가해 pH 9로 하였다. 잔류물을 CH_2Cl_2로 분획하여 농축기에서 건조하여 CH_2Cl_2 분획물 5.1 g을 얻었다. CH_2Cl_2 분획물을 silica gel column chromatography와 CH_2Cl_2-MeOH (30 : 1 → 0 : 1)의 용매를 사용하여 11개의 분획으로 나누었고, 8번 분획을 silica gel column chromatography와 CH_2Cl_2-MeOH (10 : 1 → 5 : 1) 용매를 사용하여 pseudoephedrine (64.0 mg) 및 ephedrine (84.3 mg)을 분리하였다.

Pseudoephedrine – white amorphous powder; mp, 119-120°C; ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD): 7.45~7.34 (5H, m, H-2~H-6), 4.58 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-7), 3.38 (1H, dq, J = 9.2, 6.8 Hz, H-8), 3.32 (1H, s, N-H), 2.74 (3H, s, N-CH_3), 1.10 (3H, d, J = 9.2 Hz, H-9); ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD): 142.1 (C-1), 130.0 (C-3.4.5), 128.4 (C-2,6), 75.7 (C-7), 61.9 (C-8), 30.1 (N-CH_3), 12.9 (C-9).[16-17]

Ephedrine – colorless needles; mp, 210°C; ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD): 7.46~7.30 (5H, m, H-2~H-6), 5.19 (1H, d, J = 3.2 Hz, H-7), 3.46 (1H, dq, J = 6.8, 3.2 Hz, H-8), 3.32 (1H, s, N-H), 2.81 (3H, s, N-CH_3), 1.08 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-9); ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD):

142.6 (C-1), 129.7 (C-3,5), 129.0 (C-4), 127.1 (C-2,6), 71.7 (C-7), 61.6 (C-8), 31.7 (N-CH_3), 10.1 (C-9).

저령 지표물질 분리 – 저령 (Polyporus) 1 kg을 H_2O로 4시간 동안 3회 반복하여 열탕 추출하고 여과한 후 동결 건조하여 40 g의 물 추출물을 얻었다. 물 추출물을 물에 녹여 HPLC (C_{18} column; 150 × 4.5 mm, 5 μm; mobile phase, MeOH : H_2O, 10 : 90 → 90 : 10, 60 min; detector: UV 254 nm; flow rate: 1 ml/min; t_R: 27.01 min)로 분취하여 3,4-dihydroxybenzaldehyde 3 mg을 얻었다.

3,4-Dihydroxybenzaldehyde – ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD): 9.69 (1H, s, H-7), 7.30 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-6), 3.32 (1H, s, N-H), 7.29 (1H, br s, H-2); ^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD): 193.3 (C-7), 153.8 (C-4), 146.8 (C-3), 131.2 (C-1), 119.6 (C-6), 116.4 (C-5), 114.9 (C-2).

표준액 및 분석용 검액 조제 – 생약 추출물 100 mg에 70% MeOH 10 mL를 가하여 HPLC분석용 시료로 사용하였다. pseudoephedrine, ephedrine, phytolaccoside B, phytolaccoside E, phytolaccoside I 및 3,4-dihydroxybenzaldehyde 각각 70% MeOH로 1 mg/mL 농도로 녹여 표준액으로 사용하였다. 분석용 표준액과 검액은 membrane filter로 여과한 후 사용하였다.

지표물질 정량 – 문헌 등의 자료 및 HPLC 분석 자료를 토대로 지표물질을 선정하였고, Table I과 같은 조건으로 분석하였다. 각각의 지표성분은 검량선을 작성하여 생약 추출물의 함량을 평가하였다.

추출물 안정성 실험 – 3종의 생약의 열수 추출물을 동결건조한 분말의 안정성 실험을 위해 시료를 실온과 냉장에 6개월 보관하면서 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 개월에 각각의 시료를 설정된 HPLC 조건에서 분석하였다. 각각의 시료는 일정 양씩 3개의 EP-tube에 취하고 60분간 sonication 후 membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

마황 지표물질 구조동정 – 마황의 지표성분 분리를 위해 1 kg을 MeOH로 추출하고 추출액을 물로 현탁한 후 2% HCl를 가해 pH 3으로 액성을 조절하고 ether로 추출하고 남은 물 층에 NH_4OH를 가해 pH 9로 액성을 알칼리로 하였다. 물 층을 CH_2Cl_2로 용매 분획하였고 CH_2Cl_2 분획물을 silica gel column chromatography를 반복실시하여 2종의 화합물을 분리하였다. 2종의 화합물은 ^{1}H-NMR과 ^{13}C-NMR spectroscopic data와 mp 등으로 pseudoephedrine과 ephedrine임을 확인할 수 있었고 이들의 NMR data는 문헌에 보고된 data와 일치하였다.[16-17]

저령 지표물질 구조동정 – 저령의 주요성분으로 알려진 ergosterol계 화합물은 HPLC-UV, HPLC-ELSD 분석으로 분석에 어려움이 있어, 저령의 물 추출물의 HPLC 분석을 위해 추출물 중 UV 흡수가 있는 화합물을 분리하였다. 분리된 화합물의 구조분석은 ^{1}H-NMR spectrum의 9.69 ppm에서 aldehyde peak, 7.30, 6.91 ppm 각각 doublet signal (J = 7.6 Hz), 7.29 ppm에서 broad singlet signal들이 관찰되었다. 또한 ^{13}C-NMR spectrum은 193.3 ppm에서 aldehyde carbon, 153.8, 146.8, 131.2, 119.6, 116.4, 114.9 ppm에서 aromatic ring carbon이 관찰되어 3,4-dihydroxybenzaldehyde로 구조 동정하고 저령의 HPLC 분석의 표준물질로 사용하였다.[18]

생약 추출물 지표성분 정량 – 일반적으로 생약의 분석에서 지표성분은 그 약리활성을 대표하거나 각 생약의 특이

Table I. HPLC conditions for Ephedrae Herba, Phytolaccae Radix, and Polyporus

Ephedrae Herba	Marker compounds: ephedrine, pseudoephedrine Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μm, 4.6 × 150 mm) Mobile phase: 10 mM hexanesulfonic acid-Na : acetonitrile = 90 : 10 → 60 : 40 (60 min) Detector: 210 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C
Phytolaccae Radix	Marker compounds: phytolacoside B, phytolacoside E, phytolacoside I Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μm, 4.6 × 150 mm) Mobile phase: H_2O : acetonitrile = 70 : 30 → 10 : 90 (60 min) Detector: ELSD; SC: 30°C, DT: 60 30°C, gas: 3 bar Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C
Polyporus	Marker compound: 3,4-dihydorxybenzaldehyde Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μm, 4.6 × 150 mm) Mobile phase: H_2O : acetonitrile = 90 : 10 → 35 : 65 (30 min) Detector: 220 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C

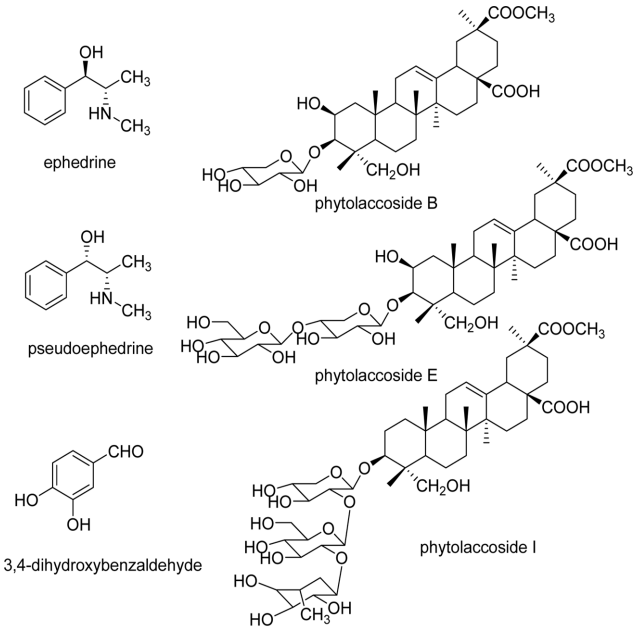

Fig. 1. Chemical structures of maker compounds (ephedrine and pseudoephedrine isolated from Ephedrae Herba; phytolacosides B, E, and I isolated from Phytolaccae Radix; 3,4-dihydroxybenzaldehyde isolated from Polyporus).

한 활성을 갖는 성분을 선정하는 것이 원칙이나, 활성성분이나 특이성분을 설정하기 어려운 경우에는 주성분을 지표성분으로 한다.[1] 본 연구에서는 3종의 생약에 대표적인 생리활성을 보이며 주성분인 마황 (Ephedrae Herba)에서는 ephedrien과 pseudoephedrine을 지표성분으로, 상륙 (Phytolaccaea Radix)은 phytolaccoside B, phytolaccoside E 및 phytolaccoside I을 지표성분으로 각각 설정하였다 (Fig. 1). 그리고 저령의 주요성분은 ergosterol계 화합물로 알려져 있으나[14] 이들 sterol 화합물은 HPLC로 분석에 어려움이 있어 저령에서 3,4-dihydroxybenzaldehyde을 분리하여 표준품으로 사용하였다. 각각의 지표성분 HPLC 분석은 Table I의 조건으로 각각의 성분이 resolution 2 이상으로 완전히 분리되어 성분의 농도 결정에 방해를 받지 않았다. 그러나 마황의 ephedrine과 pseudoephedrine의 resolution은 2이상으로 완전히 분리되지 않았으나 함량계산에는 어려움이 없었다. 상기의 분석 조건으로 각 지표성분의 검량선을 작성한 결과 r^2이 0.995 이상으로 높은 직선성이 확인되었다 (Table II).

열수추출물 안정성시험 – 마황, 상륙 및 저령의 생약추출물에 대한 안정성 자료를 얻고자, 각각의 추출물을 실온과 냉장에 보관하고 6개월간 일정 기간 간격 (1, 2, 3, 4, 5, 6 개월)으로 육안 관찰하고 유효성분 함량평가를 수행하였다. 육안 관찰에서는 실온과 냉장 장기보관시험 조건에서 색 등의 변화가 관찰되지 않았고, 6개월 장기보관에 따른 고체 상태로 굳어지는 현상도 없었다.

지표성분의 함량은 Fig. 2와 Table III과 같으며 마황 (Ephedrae Herba)의 열수 추출물 HPLC 분석 결과 pseudoephedrine 및 ephedrine이 분석조건에서 검출되었고, 2가지 성분 중 ephedrine이 주성분으로 확인 되었다. 대한약전에서 마황의 ephedrine의 함량은 0.7% 이상으로 규정하고 있어 규격에 적합한 시료이다.[19] 그러나 마황의 분석에서 주로 pseudoephedrine 및 ephedrine이 검출되었고 다른 성분은 상기의 HPLC 분석조건에서 농도가 높게 검출되지 않아 2가지 성분이 마황의 주요 alkaloid 임을 확인하였다. 6개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료도 추출 시 분석한 시료의 함량에는 차이가 없어 마황의 열수 추출물은 안정함을 확인할 수 있었다. 상륙 (Phytolaccae Radix)의 추출물 HPLC 분석 결과 phytolaccoside B, phytolaccoside E 및 phytolaccoside I가 상기의 분석조건에서 검출되었고, 3가지 성분 중 phytolaccodie I가 주요성분으로 확인 되었으며 phytolaccodie B의 함유량이 제일 적은 것으로 확인되었다. 6개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료도 추출 시 분석한 시료의 chromatogram과 차이가 없으며 성분 함량도 일정하여 상륙의 열수 추출물은 안정성이 확인되었다. 저령 (polyporus)의 추출물 HPLC 분석 결과 3,4-dihydroxybenzaldehyde가 상기의 분석조건에서 검출되었고, 저령의 주요성분으로 알려진 ergosterol계통의 화합물은 chromophore가 없어 HPLC에서 확인되지 않았다. 6개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료도 추출 시 분석한 시료의 3,4-dihydroxybenzaldehyde의 함량에 약간 변화

Table II. Calibration data of HPLC-UV

	Maker compound	Regression equation[a)]	Correlation coefficients
Ephedrae Herba	pseudoephedrine	y = -0.0156x + 0.01738	0.9994
	ephedrine	y = -0.0024x + 0.0744	0.9996
Phytolaccae Radix	phytolaccoside B	y = 0.0229x – 0.00124	0.9997
	phytolaccoside E	y = 0.0710x – 0.03554	0.9998
	phytolaccoside I	y = 0.00181x – 0.0131	0.9994
Polyporus	3,4-dihydroxybenzaldehyde	y = 0.00488x – 0.0221	0.9999

[a)]y = peak area, x = amount (μg)

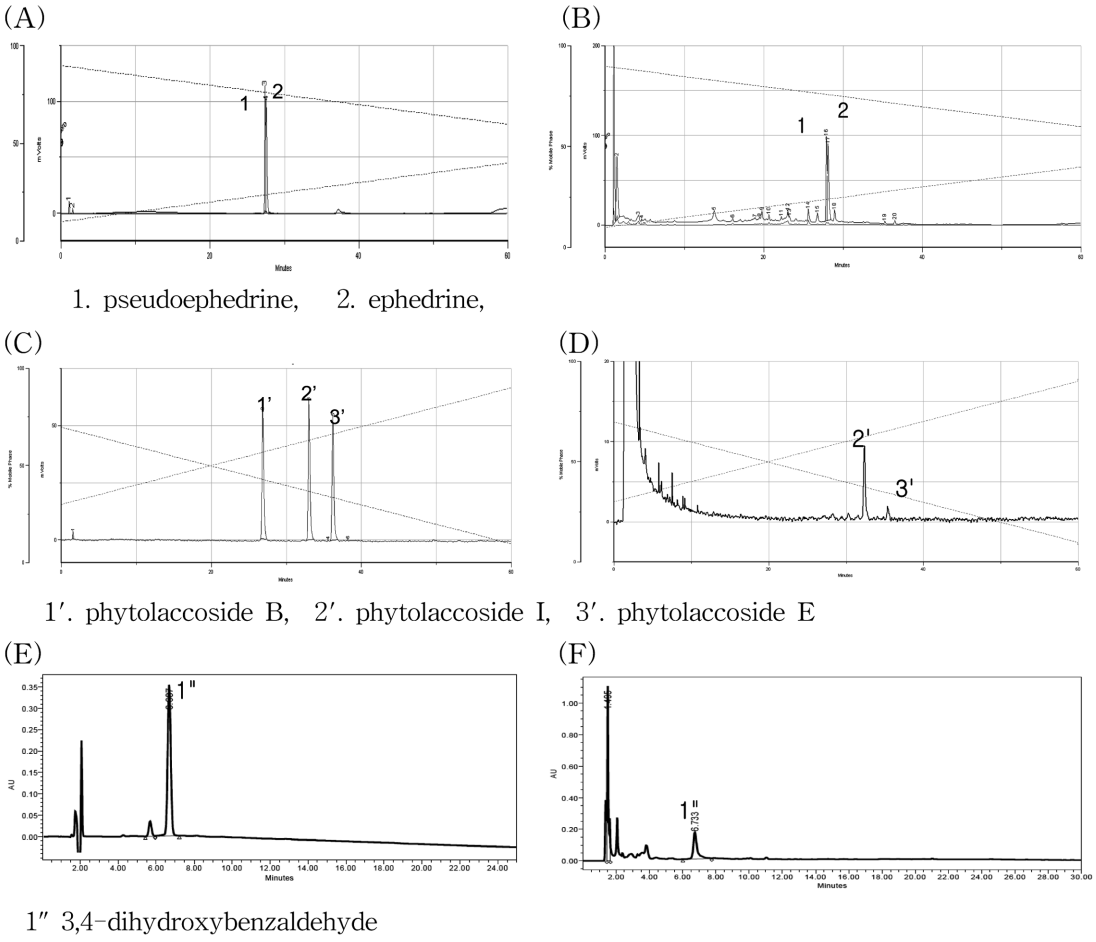

Fig. 2. HPLC chromatogram
(A) standard compounds of Ephedrae Herba, (B) extract of Ephedrae Herba, (C) standard comounds of Phytolaccae Radix, (D) extract of Phytolaccae Radix, (E) standard comound of Polyporus, (F) extract of Polyporus.

Table III. Contents of marker compounds during the period of stability test (n=3)

	Room temperature (mg/g)						
	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month	5 month	6 month
Pseudoephedrine	11.40±0.49	10.99±0.44	11.09±0.27	10.93±0.54	11.05±0.46	11.21±0.64	10.90±0.72
Ephedrine	34.30±.043	34.40±0.44	34.22±0.47	34.21±0.44	33.89±1.34	33.34±0.74	33.03±1.74
Phytolacoside B	0.79±0.00	0.77±0.07	0.78±0.05	0.76±0.15	0.75±0.07	0.75±0.15	0.75±0.09
Phytolacoside E	1.71±0.11	1.64±0.16	1.71±0.47	1.64±0.04	1.67±0.12	1.64±0.22	1.62±0.01
Phytolacoside I	246.00±4.01	233.20±7.02	239.83±8.45	240.56±7.01	238.35±7.01	238.55±5.51	235.89±4.51
3,4-dihydroxy benzaldehyde	25.48±2.61	24.87±0.57	25.04±3.25	24.28±1.75	22.58±1.80	23.54±4.20	22.16±2.20

	5°C (mg/g)						
	0 month	1 month	2 month	3 month	4 month	5 month	6 month
Pseudoephedrine	11.40±0.49	11.29±0.47	11.33±0.43	11.07±1.14	11.07±1.26	11.161±0.47	10.86±0.41
Ephedrine	34.30±.043	33.40±0.33	32.68±1.17	33.24±0.57	33.77±0.84	33.54±0.22	32.68±1.01
Phytolacoside B	0.79±0.00	0.77±0.04	0.79±0.17	0.78±0.21	0.76±0.04	0.76±0.41	0.76±0.35
Phytolacoside E	1.71±0.11	1.68±0.14	1.65±0.37	1.66±0.23	1.66±0.08	1.64±0.43	1.64±0.42
Phytolacoside I	246.00±4.01	237.51±7.78	239.19±4.47	239.41±5.37	237.02±4.88	237.49±5.71	239.38±8.61
3,4-dihydroxy benzaldehyde	25.48±2.61	25.24±0.44	25.18±0.79	24.57±2.77	23.71±1.92	23.54±4.35	23.05±2.27

가 있으나 HPLC chromatography상 불순물로 검출되는 피크가 없어 저령의 열수 추출물은 안정성이 확인할 수 있었다.

결 론

생약재의 독성실험을 위한 추출물은 식약청고시 2003-17, 표준탕제 제조법에 따라 추출 제조하였다. 추출물의 함량분석을 위해 마황의 지표성분은 pseudoephedrine 및 ephedrine으로, 상륙의 지표성분은 phytolaccoside B, phytolaccoside E 및 phytolaccoside I로 저령은 3,4-dihydroxybenzaldehyde을 지표물질로 선정하였다. 각각의 성분은 HPLC-UV 및 ELSD detector와 RP C-18 column으로 분석이 가능하였다. 추출생약재의 장기보존에 따른 안정성 시험을 위해 시료는 실온과 냉장고에 보관하였고, 실험기간은 각각 6개월간 HPLC로 분석하여 각각의 peak의 pattern과 함량으로 3종 생약의 안정성을 확인하였다. 이러한 생약 시료의 표준화와 안정성 결과는 독성시험결과의 신뢰성을 확보하고 생약의 유통과정의 효율적 품질관리 개선에도 활용이 가능하다고 기대된다.

사 사

본 연구는 2009년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구개발비 지원 (09162독관리540)에 의해 수행 되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Kim, S. H., Choi, E. J., Kim, D. H., Lee, K. Y., Lee, M., Baek, S. W., Kwak, S. J., Kang, T. S., Kim, Y. C. and Sung, S. H. (2008) Stability test of the extracts of Cimicifugae Rhizoma, Achyranthis Radix, Artemisia Capillaris Herba, Moutan Cortex Radicis and Arecae Semen for toxicity study. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 241-245.
2. Park, C. H. and Kwack, S. J. (2009) The effects of aristolochic acid on reproductive function in female rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 89-98.
3. Frei, H., Wurgler, F. E., Juon, H., Hall, C. B. and Graf, U. (1985) Aristolochic acid is mutagenic and recombinogenic in *Drosophila* genotoxicity tests. *Arch. Toxicol.* **56**: 158-166.
4. Mengs, U. (1987) Acute toxicity of aristolochic acid in rodents. *Arch. Toxicol.* **59**: 328-331.
5. Arlt, V. M., Annie, P. L., Cosyns, J. P. and Schmeiser, H. H. (2001) Analyses of DNA adducts formed by ochratoxin A and aristolochic acid in patiens with Chinese herbs nephropathy. *Mutat. Res.* **494**: 143-150.
6. Nam, N. H., Lee, C. W., Hong, D. H., Kim, H. M., Bae, K. H. and Ahn, B. Z. (2003) Antiinvasive, antiangiogenic and antitumor activity of *Ephedra sinica* extract. *Phytotherapy Research* **17:** 70-76.
7. Yamada, I., Takeucho, S., Oshima, S., Yoneyama, K., Shibuya, T., Kataoka, E., Segawa, D., Sato, W., Dohmen, T., Anezaki, Y., Ishii, H., and Ohnishi, H. (2008) Mao (*Ephedra sinica* Stapf) protects against D-galactosamine and lipopolysaccharide-induced hepatic failure. *Cytokine* **41**: 293-301.
8. Jing, H., Luo, L., Sun, J., Yi, H., Wu, Y., Wang, C. and He, G. (2010) Ephedrine controls heart rhythms by activating cardiac I (ks) currents. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **55**: 145-152.
9. Jeong, H. S., Han, J. G., Ha, J. H., Kim, Y., Oh, S. H., Kim, S. S., Jeong, M. H., Choi, G. P., Park, U. Y. and Lee, H. Y. (2009) Enhancement of Anticancer Activities of *Ephedra sinica*, *Angelica gigias* by Ultra High Pressure Extraction. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **17**: 102-108.
10. Won, K. H., Im, C. N., Choi, W. R., Lee, S. H., Cho, Y. S., Choi, S. E. and Kang, S. S. (1998) A case of Acute Renal Failure and Other Symptoms Associated with Phytolacca Radix Poisoning. *The Korean J. Nephrology* **17**: 644-648.
11. Zhao, Y. Y., Xie, R. M., Zhang, Y., Lin, R. C. and Sun, W. J. (2009) Bioactivity-directed isolation, identification of diurectic compounds from *Polyporus umbellatus*. *J. Ethnopharmacol.* **126**: 184-187.
12. Oh, Y. H., Lee, U. Y., Lee, M. W., Shim, M. J. and Lee, T. S. (2004) Immnuo-modulatory and Antitumor Effect of Crude Polysaccharides Extracted from Sclerotium of *Grifolia umbellata*. *The Korean Journal of Mycology* **32**: 23-30.
13. Sun, Y. and Yasukawa, K. (2008) New anti-inflammatory ergostane-type ecdysteroids from the sclerotium of *Polyporus umbellatus*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**: 3417-3420.
14. Ohsawa, T., Yukawa, M., Takao, C., Murayama, M. and Bando, H. (1992) Studies on constituents of fruit body of *Polyporus umbellatus* and their cytotoxic activity. *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 143-147.
15. 식의약청고시 2003-17, 안전성유효성심사규정.
16. Tesra, M. L., Hajji, C., Zaballos-Garcia, E., Garcia-Segovia, A. B. and Sepulveda-Arques, J. (2001) Asymmetric synthesis of (-)-pseudoephedrine from (2S,3S)-3-phenyloxiran-2-ylmethanol. Stereospecific interchange of amino and alcohol functions. *Tetrahedron: Asymmetry* **12**: 1369-1372.
17. Drabowicz, J., Bujnicki, B., Biscarini, P. and Mikolajczyk, M. (1999) Diastereometric sulfinates derived from (L)-N-methylephedrine: synthesis, applications and rearrangements. *Tetrahedron: Asymmetry* **10**: 3177-3187.
18. Lee, Y. S., Kang, Y. H., Jung, J. Y., Lee, S., Ohuchi, K., Shin, K. H., Kang, I. J., Yoon-Park, J. H., Shin, H. K. and Lim, S. S. (2008) Protein Glycation Inhibitors from the fruiting body of *Phelliuns linteus*. *Biol. Pharm. Bull.* **31**: 1968-1972.
19. 편집부: 대한약전 (제8개정), 약업신문 (2002).

(2010. 4. 27 접수; 2010. 5. 17 심사; 2010. 5. 20 게재확정)