

Capillary-GC(FID)에 의한 오미자 Lignan 성분의 정량

손현주 · 복진영 · 백순옥 · 김용하
한국인삼연구소

Determination of Lignan Compounds in Fruits of *Schisandra chinensis* BAILLON by Capillary-GC(FID)

Hyun-Joo Sohn, Jin-Young Bock, Soon-Ok Baik and Yong-Ha Kim
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

Abstract

The determinabilities of several lignan compounds by capillary-GC (FID) were studied. The lignan compounds used were deoxyschizandrin, gomisin N, schizandrin, wuweizisu C, gomisin A, angeloylgomisin H and tigloylgomisin H which were isolated from fruits of *Schisandra chinensis* BAILLON and identified with GC/MS(EI, 70eV), ¹H-NMR(300MHz) and IR. The GC column used was SPB-1 fused silica capillary(0.25mm ID×30m, Supelco), and the column oven temperature was programmed from 200°C to 300°C at the rate of 4°C per minute. The linearities between concentration and FID response were maintained in 2~500ppm of deoxyschizandrin and wuweizisu C and in 5~500ppm of gomisin N, schizandrin, gomisin A, angeloylgomisin H and tigloylgomisin H. The contents of lignan compounds in fruits of *S. chinensis* BAILLON produced at Moo-ju area were analyzed by the GC method: the values obtained of schizandrin and gomisin N were 6.5 and 5.9mg/g respectively, and those of gomisin A, wuweizisu C, angeloylgomisin H, deoxyschizandrin and tigloylgomisin H were 0.5~1.6mg/g.

서 론

오미자(*Schisandra chinensis* BAILLON)의 lignan 성분은 중추신경억제, 진해 등의 약효를 나타내는 화합물로서^{1,2)} pregomisin을 제외하고는 모두 dibenzocyclooctadiene 골격을 가지고 있는 것으로 알려져 있다³⁾. 오미자 lignan 성분에 관한 연구는 1961년 Kochetkov 등⁴⁾이 ether 추출물의 불검화물로부터 schizandrin을 최초로 동정한 이래 Ikeya를 중심으로 주로 새로운 schizandrin 유도체의 분리 및 구조확인⁵⁻¹⁰⁾에 치중되어 왔으나, 1983년 Nakajima 등¹¹⁾은 HPLC를 이용하여 구조가 확인된 30여종의 lignan 성분 중 schizandrin, gomisin D, gomisin J, gomisin A, gomisin G,

angeloylgomisin H, gomisin N, deoxyschizandrin, (±) γ-schizandrin 및 wuweizisu C를 정량하였고 저자 등¹²⁾은 GC/MS를 이용하여 오미자의 chloroform-methanol 추출물로부터 11종의 lignan 화합물을 동정함으로써 GC에 의한 오미자 lignan 화합물의 정량가능성을 제시한 바 있다.

본 연구에서는 오미자로부터 몇가지 lignan 성분을 분리 동정하고 GC에 의한 이들 화합물의 정량성을 조사하였는데 그 결과 10ppm 이하의 낮은 농도수준에서도 양호한 정량성이 관찰되었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재 료

1988년 10월 무주지방에서 생산된 오미자를 농

1989년 9월 26일 수리
Corresponding author: H.J. Sohn

가에서 직접 구입하여 냉동건조한 후 분말로 하여 시료로 사용하였고, lignan 성분의 추출용매와 분리용매는 특급시약 또는 HPLC용을 사용하였다.

Lignan 화합물의 분리와 동정

시료분말 25g을 chloroform-methanol(2 : 1, v/v) 혼합용매로 환류추출²⁾하고 추출액의 감압농축물을 Fig. 1에서 보는 바와 같이 silica gel column 상에서 분획³⁾한 후, 각 분획을 HPLC상에서 Econosil C₁₈(10mmID×25cm, 10μ, Waters Associates) column으로 분취하여 7개 물질을 순수 분리하였다. 이때 분리용매는 acetonitrile-methanol(1 : 1 : 1, v/v/v) 2.5ml/min이었으며 검출기는 UV(254nm)를 사용하였다. 순수분리한 7개 물질의 구조는 GC/MS(Finigan MAT 212, EI, 70eV), 1H-NMR (Bruker FT, 300MHz) 및 IR (Perkin Elmer 599 B)를 이용하여 각각 동정하였다. 이때 GC/MS 분석시료는 100ppm 농도로 chloroform-methanol 용액을 조제하여 사용하였고 GC column은 SPB-1 fused silica capillary(0.25 mm ID×30m, Supelco)를 사용하였으며 column oven의 온도는 200°C부터 300°C까지 분당 4°C씩 승온하였다. 한편, 1H-NMR 분석시료는 tetramethylsilane을 1% 첨가한 CDCl₃(Aldrich Co.)에 녹여서 사용하였고, IR 분석시료는 KBr(Sigma Co.)로 pellet을 만들어 사용하였다.

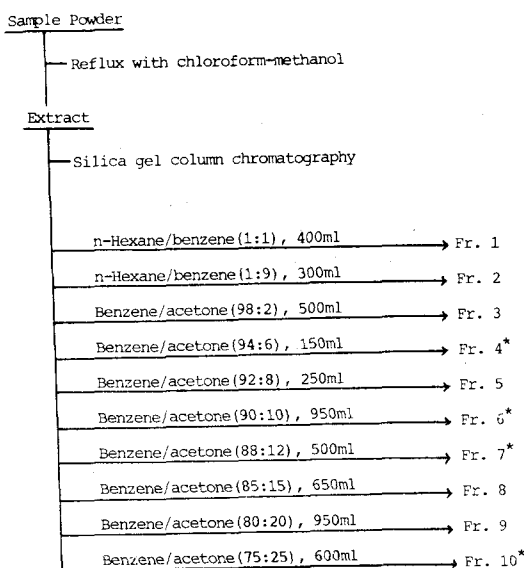


Fig. 1. Fractionation of lignan compounds from fruits of *Schisandra chinensis* BAILLON

* Lignan compounds were found.

Lignan 화합물의 정량성

위에서 분리 동정한 7종의 lignan 화합물을 chloroform-methanol(2 : 1, v/v) 혼합용매에 녹여 각 화합물의 농도가 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 또는 500ppm이 되게 표준혼합용액을 조제한 후 GC로 분석하였다. 이때 GC column은 SPB-1 fused silica capillary(0.25mm ID×30m, Supelco)를 사용하였고 column oven의 온도는 200°C부터 300°C까지 분당 4°C씩 승온하였다. Carrier gas는 질소 기체를 사용하였고 유속은 1.0ml/min이었으며, GC 주입량은 5.0μl, split ratio는 40 : 1이었다. 한편, 각 화합물의 FID response는 GC (Hewlett-Packard 5890 A)에 부착된 integrator (Hewlett-Packard 3393 A)에 의하여 구하였으며, 정량가능 농도범위는 각 화합물의 농도와 FID response와의 관계를 log scale로 plotting 하였을 때 ±5%편차 이내로 직선관계가 유지되는 농도범위로 결정하였다.

무주산 오미자의 lignan 성분 함량분석

시료분말 500mg을 Nakajima 등³⁾의 방법에 준하여 추출하고 추출액의 전량을 20ml로 정용한 후 GC로 분석하였다.

결과 및 고찰

Lignan 화합물의 분리와 동정

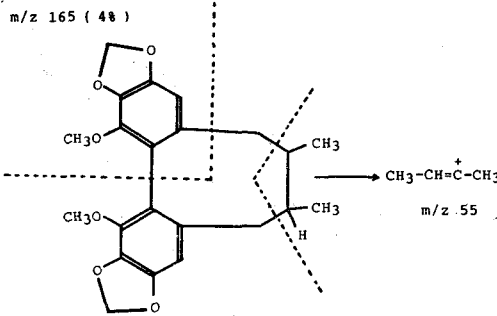
무주산 오미자의 chloroform-methanol 추출물을 silica gel column 상에서 극성별로 분획한 결과 compound I은 4번 분획에서, compound II는 6번 분획에서, compound III, IV 및 V는 7번 분획에서, compound VI 및 VII은 10번 분획에서 각각 분리되었으며, 이들 분획을 HPLC상에서 Econosil C₁₈ column으로 분취하여 얻은 7개 물질의 순도는 GC chromatogram 상에서의 피크면적비로 간접적으로 산출하였을때 모두 97% 이상이었다. Compound I~VII의 MS, 1H-NMR 및 IR 분석결과와 예상되는 구조는 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

Compound I의 mass fragment ion은 m/z 384 (M⁺, 100%), 329(M⁺-55, 13%), 219(M⁺-165, 10%), 165(4%)이었고, NMR 분석결과 3.48(3H, s, -OCH₃), 3.83(3H, s, -OCH₃), 5.94(4H, s, -OC H₂O-×2), 6.48(2H, s, aromatic CH×2)의 chemical shift를 나타내었으며, IR 분석결과 1605cm⁻¹ (aromatic C=C)에서 흡수피크를 나타내었다.

따라서 compound I 은 분자량이 384인 wuweizisu C로 동정하였다.

Compound II의 mass fragment ion은 m/z 416

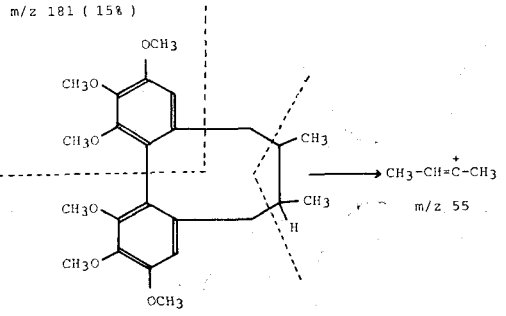
(M⁺, 100%), 361(M⁺-55, 9%), 235(M⁺-181, 35%), 181(15%)이었고, NMR 분석결과 3.51(6H, s, -OCH₃×2), 3.59(3H, s, -OCH₃), 3.90(6H, s,



MS: m/z 384 (M⁺, 100%)
329 (M⁺-55, 13%)
219 (M⁺-165, 10%)

NMR: 3.48 (3H, s, -OCH₃)
3.83 (3H, s, -OCH₃)
5.94 (4H, s, -OCH₂O- x 2)
6.48 (2H, s, aromatic CH x 2)

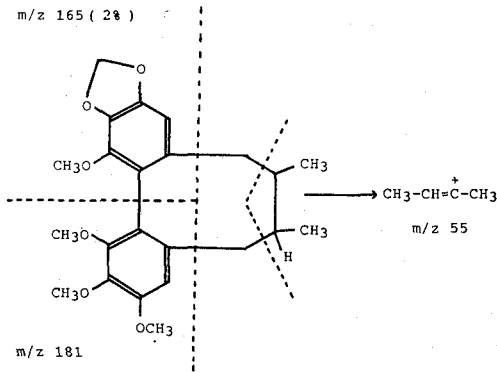
IR: 1605cm⁻¹ (aromatic C=C)



MS: m/z 416 (M⁺, 100%)
361 (M⁺-55, 9%)
235 (M⁺-181, 35%)

NMR: 3.51 (6H, s, -OCH₃ x 2)
3.59 (3H, s, -OCH₃)
3.90 (6H, s, -OCH₃ x 2)
3.95 (3H, s, -OCH₃)
6.54 (2H, s, aromatic CH x 2)

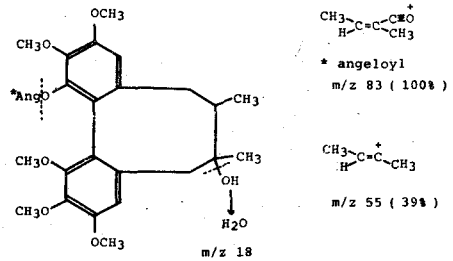
IR: 1595cm⁻¹ (aromatic C=C)



MS: m/z 400 (M⁺, 100%)
345 (M⁺-55, 6%)
219 (M⁺-181, 4%)

NMR: 3.54 (3H, s, -OCH₃)
3.82 (3H, s, -OCH₃)
3.88 (3H, s, -OCH₃)
3.89 (3H, s, -OCH₃)
5.94 (2H, s, -OCH₂O-)
6.48 (1H, s, aromatic CH)
6.55 (1H, s, aromatic CH)

IR: 1595 & 1605cm⁻¹ (aromatic C=C x 2)



MS: m/z 500 (M⁺, 44%)
482 (M⁺-18, 4%)
417 (M⁺-83, 12%)

NMR: 1.25 (3H, s, HO-C-CH₃)
3.49 (3H, s, -OCH₃)
3.75 (3H, s, -OCH₃)
3.86 (6H, s, -OCH₃ x 2)
3.91 (3H, s, -OCH₃)
6.56 (1H, s, aromatic CH)
6.69 (1H, s, aromatic CH)

IR: 1605cm⁻¹ (aromatic C=C)
3500cm⁻¹ (-OH)

CH₃-C=C-C(=O)
H-C-CH₃

* angeloyl
m/z 83 (100%)

CH₃-C=C-CH₃⁺
H-C-CH₃

m/z 55 (39%)

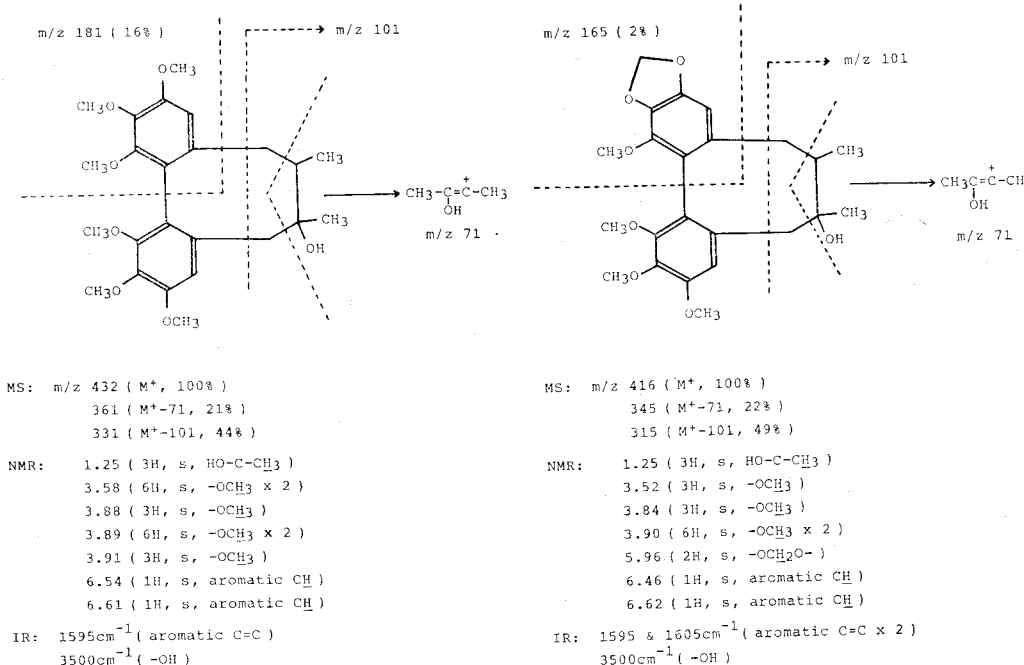


Fig. 2. Structure of compound I (A, wuweizisu C), II (B, deoxyschizandrin), III (C, gomisin N), IV (D, angeloylgomisin H), V (E, schizandrin) and VI(F, gomisin A)

-OCH₃ × 2), 3.95(3H, s, -OCH₃), 6.54(2H, s, aromatic CH × 2)의 chemical shift를 나타내었으며, IR 분석 결과 1595cm⁻¹(aromatic C=C)에서 흡수피크를 나타내었다. 따라서 compound II는 분자량이 416인 deoxyschizandrin으로 동정하였다.

Compound III의 mass fragment ion은 m/z 400 (M⁺, 100%), 345(M⁺-55, 6%), 219(M⁺-181, 4%), 165(2%)이었고, NMR 분석결과 3.54(3H, s, -OCH₃), 3.82(3H, s, -OCH₃), 3.88(6H, s, -OCH₃ × 2), 5.94(2H, s, -OCH₂O-), 6.48(1H, s, aromatic CH), 6.55(1H, s, aromatic CH)의 chemical shift를 나타내었으며, IR 분석결과 1595, 1605cm⁻¹ (aromatic C=C × 2)에서 흡수피크를 나타내었다. 따라서, compound III은 분자량이 400인 gomisin N으로 동정하였다.

Compound IV의 mass fragment ion은 m/z 500 (M⁺, 44%), 482(M⁺-18, 4%), 417(M⁺-83, 12%), 83(100%), 55(39%)이었고, NMR 분석결과 3.49(3H, s, -OCH₃), 3.75(3H, s, -OCH₃), 3.86(6H, s, -OCH₃ × 2), 3.91(3H, s, -OCH₃), 1.25(3H, s, HO-C-CH₃), 6.56(1H, s, aromatic CH), 6.69(1H, s, aromatic CH)의 chemical shift를 나타

내었으며, IR 분석결과 1605cm⁻¹(aromatic C=C), 3500cm⁻¹(-OH)에서 흡수피크를 나타내었다. 한편, compound V도 compound IV와 거의 동일한 mass fragment ion, chemical shift 및 IR 흡수피크를 나타내었는데, 이 두 화합물의 검화물을 분석한 결과 compound IV로부터는 angelic acid가 검출되었고 compound V로부터는 angelic acid의 cis-trans isomer인 tiglic acid가 검출되었다. 따라서, compound IV는 angeloylgomisin H, compound V는 tigloylgomisin H로 각각 동정하였다.

Compound VI의 mass fragment ion은 m/z 432 (M⁺, 100%), 361(M⁺-71, 21%), 331(M⁺-101, 44%), 181(16%)이었고, NMR 분석결과 1.25(3H, s, HO-C-CH₃), 3.58(6H, s, -OCH₃ × 2), 3.88(3H, s, -OCH₃), 3.89(6H, s, -OCH₃ × 2), 3.91(3H, s, -OCH₃), 6.54(1H, s, aromatic CH), 6.61(1H, s, aromatic CH)의 chemical shift를 나타내었으며, IR 분석결과 1595cm⁻¹(aromatic C=C), 3500cm⁻¹(-OH)에서 흡수피크를 나타내었다. 따라서, compound VI은 schizandrin으로 동정하였다.

Compound VII의 mass fragment ion은 m/z 416 (M⁺, 100%), 345(M⁺-71, 22%), 315(M⁺-101,

49%), 165(2%)이었고, NMR 분석결과 1,25(3 H, s, HO-C-CH₃), 3.52(3H, s, -OCH₃), 3.84(3 H, s, -OCH₃), 3.90(6H, s, -OCH₃×2), 5.96(2 H, s, -OCH₂O-), 6.46(1H, s, aromatic CH), 6.62(1H, s, aromatic CH)의 chemical shift를 나타내었으며, IR 분석결과 1595, 1605cm⁻¹ (aromatic C=C×2), 3500cm⁻¹(-OH)에서 흡수피크를 나타내었다. 따라서 compound VII은 gomisin A로 동정하였다.

Lignan 화합물의 정량성

위에서 분리 동정한 lignan 화합물의 표준혼합 용액을 GC(FID)상에서 SPB-1 fused silica capillary column으로 분석한 결과 Fig. 3과 같은 profile을 얻었다. 각 lignan 화합물의 retention time은 deoxyschizandrin이 20.1분, gomisin N이 21.3분, schizandrin이 22.4분, wuweizisu C가 22.6분, angeloylgomisin H가 [26.8분, tigloylgo-

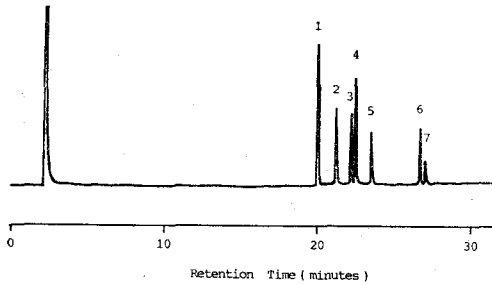


Fig. 3. GC profile of lignan compounds identified from fruits of *Schisandra chinensis* BAILLON.

1 : Deoxyschizandrin, 2 : Gomisin N, 3 : Schizandrin, 4 : Wuweizisu C, 5 : Gomisin A, 6 : Angeloylgomisin H, 7 : Tigloylgomisin H

misin H가 27.5분으로 각 피크의 분리상태는 매우 양호하였다.

Lignan 화합물의 농도와 FID response와의 관계는 Table 1에서 보는 바와 같이 deoxyschizandrin과 wuweizisu C가 2~500ppm의 농도 범위에서 직선관계를 유지하였고 gomisin N, schizandrin, gomisin A, angeloylgomisin H 및 tigloylgomisin H는 5~500ppm의 농도범위에서 직선관계를 유지하였는데, 이때 각 화합물에 대한 회귀직선방정식의 상관계수는 모두 1% 수준의 높은 유의성을 나타내었다. 한편 각 화합물의 response factor(단위농도에 대한 FID response의 비)는 Table 2에서 보는 바와 같이 농도가 증가함에 따라 다소 낮아지는 경향이였으나 직선관계가 유지되는 농도범위 내에서 농도와의 상관계수는 5% 수준에서도 유의성이 없었다. 따라서 이들 lignan 화합물은 SPB-1 fused silica capillary column과 상호작용을 거의 하지 않는 것으로 사료되었으며, 각 화합물의 정량 가능 최소농도는 deoxyschizandrin과 wuweizisu C는 2ppm이고 gomisin N, schizandrin, gomisin A, angeloylgomisin H 및 tigloylgomisin H는 5ppm임을 알 수 있었다. 이때 GC 주입량이 5.0μl이었고 split ratio가 40 : 1이었던 점을 고려하여 정량 가능최소량을 산출하면 각 lignan 화합물은 0.25~0.625ng의 낮은 수준에서도 정량이 가능하다고 사료된다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 본 연구에서 사용한 GC조건은 미량의 lignan 화합물을 분석하고자 하는 경우 뿐만 아니라 lignan 화합물의 농도수준이 각기 다른 시료를 다량 분석하고자 하는 경우에도 적합하리라고 사료된다.

Table 1. Correlation between concentration and FID response of lignan compounds

	$Y=aX+b^{1)}$	r	DCR ²⁾
Deoxyschizandrin	$Y=385X+809$	0.99995**	2~500ppm
Gomisin N	$Y=263X+264$	0.99998**	5~500
Schizandrin	$Y=208X+321$	0.99995**	5~500
Wuweizisu C	$Y=321X+441$	0.99997**	2~500
Gomisin A	$Y=187X+559$	0.9998**	5~500
Angeloylgomisin H	$Y=174X+316$	0.9999**	5~500
Tigloylgomisin H	$Y=179X+ 92$	0.9998**	5~500

1) X : concentration(ppm, w/v), Y : FID response.

2) DCR : deteminable concentration range.

** p<0.01

Table 2. Correlation between concentration and response factor of lignan compounds

	$Y'=aX+b^{1)}$	r	t^2	n
Deoxyschizandrin	$Y'=-0.1235X+434.7$	-0.6855	-2.31	8
Gomisin N	$Y'=-0.0190X+271.3$	-0.1913	-0.44	7
Schizandrin	$Y'=-0.0389X+223.6$	-0.5689	-1.55	7
Wuweizisu C	$Y'=-0.0464X+340.6$	-0.3812	-1.01	8
Gomisin A	$Y'=-0.0395X+190.0$	-0.4969	-1.28	7
Angeloylgomisin H	$Y'=-0.0459X+192.2$	-0.5332	-1.41	7
Tigloylgomisin H	$Y'=-0.0354X+185.5$	-0.3221	-0.68	7

1) X : Concentration (ppm, w/v), Y' : response factor.

2) $t = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}}$ ($t_{0.05,5} = 2.57, t_{0.05,6} = 2.45$)

무주산 오미자의 lignan 성분 함량

무주산 오미자의 lignan 성분을 GC로 정량한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. Lignan 성분의 함량은 schizandrin이 6.50mg/g으로 가장 높았고, gomisin N, gomisin A, wuweizisu C, angeloylgomisin H, deoxyschizandrin, tigloylgomisin H의 순으로 낮았는데, 이러한 경향은 Nakajima 등³⁾의 보고와 대체로 일치하였다.

Table 3. The lignan contents in fruits of *Schisandra chinensis* BAILLON produced at Moo-ju

	Contents (mg/g)	Composition (%)
Deoxyschizandrin	0.76	4.3
Gomisin N	5.91	33.6
Schizandrin	6.50	36.9
Wuweizisu C	1.25	7.1
Gomisin A	1.62	9.2
Angeloylgomisin H	1.04	5.9
Tigloylgomisin H	0.52	3.0
Total	17.60	100.0

초 록

무주산 오미자로부터 lignan 화합물인 deoxyschizandrin, gomisin N, schizandrin, gomisin A, wuweizisu C, angeloylgomisin H 및 tigloylgomisin H를 분리 동정하고 capillary-GC (FID)를 이용하여 이들 화합물의 정량성을 조사하였다. 이때 lignan 화합물의 동정에는 GC/MS (Finigan

MAT 212; EI, 70eV), 1H-NMR (Bruker FT; 300MHz) 및 IR (Perkin Elmer 599B)을 이용하였으며, lignan 화합물의 정량에는 FID 및 integrator(Hewlett-Packard 3393A)가 부착된 GC (Hewlett-Packard 5890A)를 이용하였다. 한편, GC column은 SPB-1 fused silica capillary(0.25mm ID×30m, Supelco)를 사용하였고 column oven의 온도는 200°C부터 300°C까지 분당 4°C씩 승온하였으며, carrier gas는 N₂, 1.0ml/min(split ratio =40 : 1)을 사용하였다. 각 lignan 화합물의 정량 가능농도범위는 deoxyschizandrin과 wuweizisu C가 2~500ppm이었고 gomisin N, schizandrin, gomisin A, angeloylgomisin H 및 tigloylgomisin H가 5~500ppm이었으며 무주산 오미자의 lignan 성분 함량은 schizandrin이 6.50mg/g으로 가장 높았고 gomisin N, gomisin A, wuweizisu C, angeloylgomisin H, deoxyschizandrin, tigloylgomisin H의 순으로 낮은 경향이었다.

참 고 문 헌

1. Bao, T-T., Xu, G-T., Tao, G-T., Sun, R-H. and Song, Z-Y.: Acta. Pharm. Sinica., 14 : 1(1979)
2. 前田信也, 須藤和彦, 油田正樹, 池谷幸信, 田口平八郎 : 藥學雜誌, 101 : 1030(1981)
3. Nakajima, K., Taguchi, H., Ikeya, Y., Endo, T. and Yosioka, I.: Yakugaku Zasshi, 103(7) : 743(1983)
4. Kochetkov, N.K., Khorlin, A. Ya. and Chizhov, O.S.: Zh. Obshch. Khim., 31 : 3454

- (1961)[Chemical Abstract, 57 : 3334(1962)]
5. Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I.: Chem. Pharm. Bull., 26(1) : 328(1978)
 6. Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, Y.: Chem. Pharm. Bull., 26(2) : 682(1978)
 7. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H.: Chem. Pharm. Bull., 26(10) : 3257(1978)
 8. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H.: Chem. Pharm. Bull., 27(6) : 1383(1979)
 9. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I., Itaka, Y. and Kobayashi, H.: Chem. Pharm. Bull., 27(6) : 1395(1979)
 10. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H.: Chem. Pharm. Bull., 27(7) : 1583(1979)
 11. Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I.: Chem. Pharm. Bull., 27(10) : 2536(1979)
 12. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H.: Chem. Pharm. Bull., 27(11) : 2695(1979)
 13. Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I.: Chem. Pharm. Bull., 28(8) : 2422(1980)
 14. Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I.: Chem. Pharm. Bull., 30(1) : 132(1982)
 15. Ikeya, Y., Taguchi, H. and Yosioka, I.: Chem. Pharm. Bull., 30(9) : 3207(1982)
 16. Ikeya, Y., Ookawa, N., Taguchi, H. and Yosioka, I.: Chem. Pharm. Bull., 30(9) : 3302(1982)
 17. Taguchi, H. and Ikeya, Y.: Chem. Pharm. Bull., 23(12) : 3296(1975)
 18. Taguchi, H. and Ikeya, Y.: Chem. Pharm. Bull., 25(2) : 364(1977)
 19. Sohn, Hyun-Joo and Bock, Jin-Young: J. Korean Agric. Chem. Soc., 32(4) : 344(1989)