

韓國產芍藥根含有 Paeoniflorin 과 Albiflorin의 分離 및 分析

鄭名根*·姜光熙**

Isolation and Determination of Paeoniflorin and Albiflorin in Korean Peony(*Paeonia lactiflora* Pall) Root

Myoung Gun Choung* and Kwang Hee Kang**

ABSTRACT : From Korean cultivated peony root, paeoniflorin and albiflorin, which are generally considered to be principal components of peony root, were isolated by silicagel column chromatography. Their structures were identified by spectroscopic methods (UV, FT-IR, ¹H-¹³C-NMR) and their purities were 98% and 93%, respectively. The concentrations of paeoniflorin and albiflorin in ten Korean cultivated peony lines were determined by reverse phase HPLC. The concentrations of paeoniflorin ranged from 1.56 to 4.04% and those of albiflorin ranged from 0.04 to 1.98% in ten Korean cultivated lines. In the ten cultivated lines, the concentrations of albiflorin in Punggi lines were higher than other lines.

Key words : Peony roots, *Paeonia lactiflora* Pall., Paeoniflorin, Albiflorin, Silicagel column chromatography, Reverse phase HPLC

緒 言

芍藥은 미나리아재비과 (*Ranunculaceae*) 에 속하는 다년생 초본으로 그 뿌리를 한방 약용으로 이용한다^{1, 2, 7, 8, 9}. 古書에 의한 생약재 작약은 主治結實, 結實而拘攣也, 旁治腹痛, 頭痛, 身體不仁, 疼痛, 腹, 咳逆, 腫脹 등에 사용된다고 하였고¹¹, 현대적으로 말하면 收斂緩和, 鎮痙劑, 鎮痛劑, 腹痛, 手足의 攣急에 이용되는 생약으로 枳實 및 桂枝加芍藥湯, 芍藥甘草湯, 四物湯, 當歸芍藥散 등의 여러 처방에 고농도로 배합되는 배합제제의 원료이다.

작약근에 함유된 유효성분으로는 일본산 작약에서 paeoniflorin¹³, oxypaeoniflorin⁶, benzoylpaeoniflorin⁶, pentagalloylglucose¹², albiflorin¹⁴, Paeonol¹⁴ 및 paeonilactone-A, B, C² 가 單離되었고, 그 구조가 결정되었다. 작약근 함유성분의 약리작용으로서 Takagi 등¹⁶이 paeoniflorin을 대상으로 혈압강하, 진통, 진경, 항경련, 항염증 등의 효과를 보고하여 성분면에서 paeoniflorin이 작약 품질평가의 지표로 대두되었다. 그러나 Kobayashi 등¹¹은 작약근이 나타내는 활성은 paeoniflorin과 함께 상승작용을 나타내는 물질에 의한 것일수 있다는 가능성을 제시하였으며,

* 嶺南農業試驗場 (National Yeongnam Agricultural Experiment Station, RDA, Milyang 627 - 130, Korea)

** 嶺南大學校 自然資源大學 (College of Natural Resources, Yeungnam Univ., Kyongsan, 712 - 749, Korea)

('97. 8. 8 접수)

Takeda 등¹⁷⁾은 paeoniflorin이 體內 흡수되었을 때 상당량이 소변을 통해 배설되며, 생물학적 활성이 낮기 때문에 주 치료효과를 나타내는 물질로 보기는 어렵다고 보고한 바 있다. 또한 Sugaya 등¹⁸⁾은 경구적 투여시 작약근의 주 활성작용으로 알려진 항경련작용이 paeoniflorin에서는 효과가 적었고, 오히려 이성체인 albiflorin이 더 높다고 보고한 바 있다.

이에 저자들은 한국산 재배작약 중 의성작약 (*Paeonia lactiflora* Pall.)을 이용하여 작약근의 주 약리적 활성물질로 평가되는 paeoniflorin과 albiflorin을 순수 분리하여 구조를 확인하였고, 이들을 표품으로 이용하여 국내 재배작약 10계통의 함량을 정량적으로 분석하여 국내 재배작약의 활성물질 高 함유 품종 선발 및 품질 규격화의 기초자료를 제공하고자 본 연구를 수행하였다.

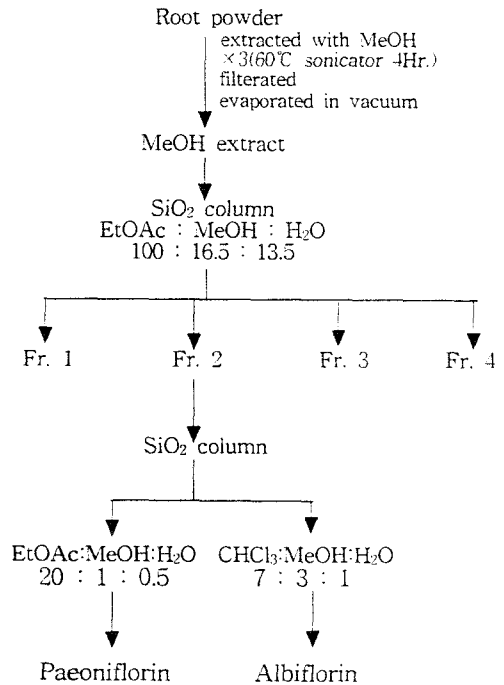
材料 및 方法

본 실험 중 paeoniflorin 및 albiflorin 분리에 이용된 재료는 1994년 경북농촌진흥원에서 재배된 3년 생 “의성작약” (*Paeonia lactiflora* Pall.)을 이용하였다. 10월 중순경 지상부 생육이 왕성했던 5개체를 수확하여 너두 및 가는뿌리를 제거하고, 水洗하였으며, 상온에서 약 30일간 陰乾한 후, 60mesh로 분쇄하여 시료로 이용하였다.

작약근 분쇄시료 500g에 메탄올을 가하여 60°C 초음파추출기에서 4시간씩 3회 반복 추출하였고, Whatman No. 40 여지로 여과한 후 감압 농축하여 84g의 작약근 메탄올 추출물을 얻었다.

직경 7cm × 높이 70cm의 유리컬럼에 hexane과 silicagel (Merck, 7729)을 혼합하여 약 50cm의 높이가 되게 컬럼을 충전하였고, 메탄올 추출물 84g 중 10g을 취하여 동량의 silicagel과 혼합한 뒤 마쇄하여 시료로 loading하였다. 용리용매는 TLC pattern에서 paeoniflorin의 Rf 치가 0.6을 나타낸 EtOAc : MeOH : H₂O (100 : 16.5 : 13.5)의 혼합 전개용매를 이용하여 분리하였고, 그 결과 일부 황색 색소가 포함된 4개의 fraction을 분획하였다. 그 중 paeoniflorin과 albiflorin이 가장 많이 함유된 2번 fraction을 농축하여 2g의 1차 분획물을 얻었다.

2g의 1차 분획물을 다시 동량의 silicagel을 첨가하여 직경 3cm × 높이 80cm인 유리컬럼에 60cm의 silicagel (Merck, 7729)을 충전한 2차 컬럼에 loading하였다. 2차 용리용매는 TLC pattern에서 paeoniflorin의 Rf치가 약 0.3을 나타낸 EtOAc : MeOH : H₂O (20 : 1 : 0.5)의 혼합 전개용매를 이용하여 fraction collector에서 분획, 포집하여 paeoniflorin을 분리하였다. 또한 paeoniflorin을 분리해 낸 2차 컬럼에 계속해서 CHCl₃ : MeOH : H₂O (7 : 3 : 1, 하층)의 혼합 전개용매를 이용하여 fraction collector에서 분획, 포집하여 albiflorin을 분리하였다 (Scheme 1).



Scheme 1. Extraction and isolation of paeoniflorin and albiflorin from *Paeoniae* radix powder.

분리된 paeoniflorin 및 albiflorin의 구조검정은 ¹H-¹³C-NMR (BRUKER, ARX-300), FT-IR (JASCO-5300, JAPAN), UV spectrophotometer (SHIMADZU 5840, JAPAN)와 MS (JEOL JMS-AX 505WA, FAB* mode)를 이용하여 확인하였다.

한국산 재배작약 계통별 paeoniflorin 및 al-

biflorin의 함량 분석에 이용된 재료는 경북농촌진흥원 포장에서 재배된 "풍기 7호" 외 9계통의 3년생 작약 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 을 이용하였고, 건조된 분쇄시료 1g에 100ml 메탄올을 첨가하여 60°C 초음파추출기에서 3시간 추출하였으며, TOYO 5B 및 0.45 μ m membran filter로 여과한 후 HPLC에서 분석하였다.

HPLC 분석에 이용된 column은 ODS-120T (TOSOH, 250 \times 3.9mm, JAPAN)였으며, 파장은 254nm, 감도는 0.05 AUFS, 이동상은 4상용매로 H₂O : CH₃CN : CH₃OH : CH₃COOH를 80 : 15 : 5 : 0.2 의 부피비로 혼합한 용매를 0.7ml/min. 로 흘려 분석하였다. 이때 column의 온도는 35°C로 한정하여 분석의 재현성을 증대시켰고, 시료 주입량은 20 μ l였다.

각 계통별 paeoniflorin 및 albiflorin의 함량은 순수 분리하여 구조를 확인한 분리 표준품을 이용하여 농도별 검량선을 작성하고 계산하였다 (Fig. 1).

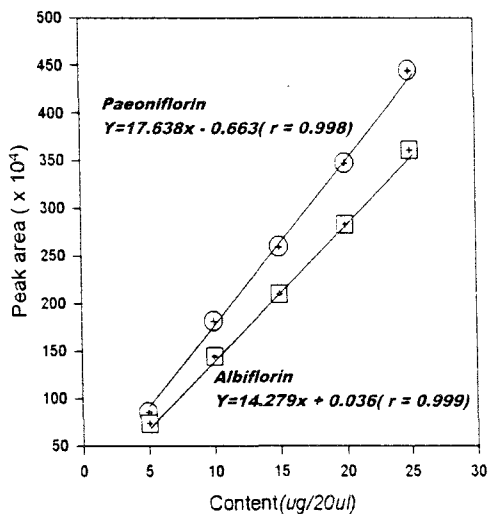


Fig. 1. Calibration curves of paeoniflorin and albiflorin standards.

結果 및 考察

1. paeoniflorin의 분리 및 구조 검정

작약근 메탄올 추출물을 1, 2차 silicagel column으로 분리하였을 때 HPLC분석에서 한개의

독립된 peak로 분리된 무색의 paeoniflorin을 분리하였고, HPLC 상대순도는 98% 였다. 분리된 paeoniflorin의 구조는 UV, FT-IR, ¹H-¹³C-NMR의 스펙트럼으로 분석하여 아래와 같은 결과를 얻었으며, 문헌상 결과와 일치하였다^{10,13}.

UV λ_{max} nm = 232, 275, 281 nm. IR ν_{max} cm⁻¹ (KBr) = 3422(OH), 2962, 1710(ester), 1451, 1277, 1177, 1075 (glucosidic C-O), 799~634 cm⁻¹. ¹H-NMR (300MHz, CD₃OD) δ =1.36 (3H, s, CH₃), 1.82 & 2.21 (each 1H, d, J=14Hz, H-3), 2.09 & 2.52 (each 1H, m, H-7), 2.60 (1H, d, J=5Hz, H-5), 4.54 (2H, s, H-8), 3.20~4.97 (7H, H-1' ~ 6'), 5.47 (1H, s, H-9), 7.49 (2H, m, H-3'', 5''), 7.61 (1H, m, H-4''), 8.04 (2H, m, H-2'', 6''). ¹³C-NMR (75.5MHz, CD₃OD) δ =19.60 (C-10), 27.29 (C-7), 43.95 (C-5), 44.53 (C-3), 61.70 (C-8), 62.87 (C-6'), 71.74 (C-4'), 72.25 (C-6), 75.01 (C-2'), 77.98 (C-5'), 78.05 (C-3'), 87.25 (C-2), 89.33 (C-1), 100.20 (C-1'), 102.31 (C-9), 106.40 (C-4), 129.65 (C-3'', 5''), 130.68 (C-2'', 6''), 131.22 (C-1''), 134.44 (C-4''), 167.96 (C-7'')

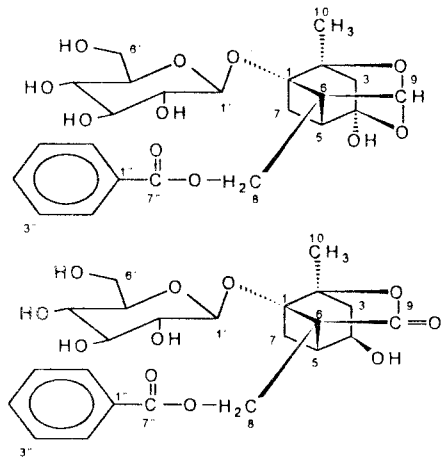


Fig. 2. Chemical structures of paeoniflorin and albiflorin.

2. albiflorin의 분리 및 구조 검정

paeoniflorin을 분리한 2차 silicagel column에서 클로로포름 : 메탄올 : 물이 7 : 3 : 1로 혼합된 용

매의 하층부를 용리용매로 이용하여 무색의 albiflorin 분말을 분리하였고, HPLC 상대순도는 93% 였다. 분리된 albiflorin의 UV, FT-IR, ^1H , ^{13}C -NMR 스펙트럼은 아래와 같다.

UV λ_{max} nm = 232, 275, 280nm. IR ν_{max} cm^{-1} (KBr) = 3425 (OH), 2926, 1752 (lactone), 1712 (ester), 1452, 1277, 1178, 1074 (glucosidic C-O), 806~714 cm^{-1} . ^1H -NMR (300MHz, CD_3OD) δ = 1.51 (3H, s, CH_3), 1.97 & 2.82 (each 1H, d, $J=11\text{Hz}$, H-3), 2.06 & 2.94 (each 1H, m, H-7), 2.44 (1H, dd, $J=7, 3\text{Hz}$, H-5), 3.17~4.54 (7H, H-1' ~6'), 4.28 (1H, m, H-4), 4.69 & 4.82 (each 1H, d, $J=12\text{Hz}$, H-8), 7.52 (2H, m, H-3'', 5''), 7.64 (1H, m, H-4''), 8.09 (2H, m, H-2'', 6''). ^{13}C -NMR (75.5MHz, CD_3OD) δ = 20.58 (C-10), 28.49 (C-7), 41.60 (C-5), 41.72 (C-3), 56.88 (C-6), 62.03 (C-8), 62.84 (C-6'), 68.43 (C-1), 71.65 (C-4'), 74.87 (C-2'), 78.04 (C-5'), 78.19 (C-3'), 86.96 (C-2), 93.51 (C-4), 100.12 (C-1'), 129.70 (C-3'', 5''), 130.79 (C-2'', 6''), 131.28 (C-1''), 134.44 (C-4''), 167.94 (C-7''), 178.05 (C-9)

3. 재배작약 계통별 paeoniflorin 및 albiflorin 함량

경북농촌진흥원에서 분리 육성한 지방종인 “풍기 7호” 외 9계통의 3년생 작약을 대상으로 HPLC 분석을 수행한 chromatogram은 Fig. 3과 같고, 계통간 paeoniflorin 및 albiflorin의 함량은 Table 1과 같다.

공시 계통별 paeoniflorin 함량은 의성 9호가 1.56%로 가장 낮았고, 밀양 4호가 4.04%로 가장 높았다. 풍기 계통들은 2.61~2.84%의 범위로 변이 폭이 적었으나, 의성 4호, 밀양 4호, 청도 1호, 산작약(태백산, 금성산) 2계통들은 3%이상의 함량을 나타내어 계통간 paeoniflorin 함량에 차이가 있음을 확인하였다. 강 등⁹⁾에 의하면 국내 수집작약 87계통간의 paeoniflorin 함량을 조사한 결과 1.3~12.5%의 범위로 지방종간에 변이 폭이 크다고 보고한 바 있고, Ikeda 등⁹⁾도 산지가 서로 다른 67종의 작약에서 0.12~9.61%의 함량 차이를 보고하

여 지방종 및 산지에 따라 함량에 큰 차이가 있음을 보고하였다. 한편 日本藥局方解説書²⁾에는 작약의 성상에 관한 항목에서 paeoniflorin의 함량을 2~6%로 제한하여 기재하였다.

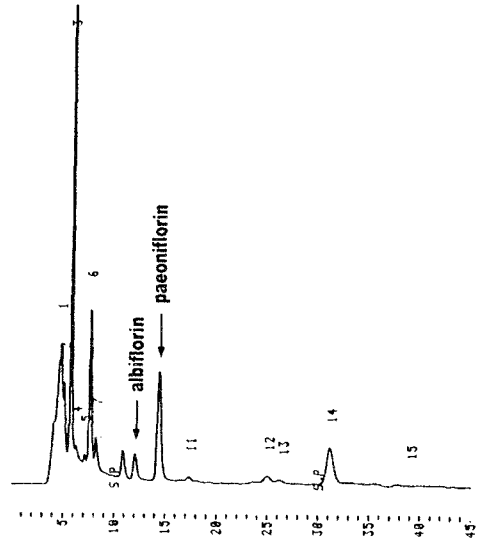


Fig. 3. HPLC chromatogram of *Paeoniae radix* extract.

Table 1. Comparison of paeoniflorin and albiflorin concentrations among cultivated lines.

Cultivated line		Concentration (%)	
		Paeoniflorin	Albiflorin
Punggi	7	2.608	0.099
	15	2.516	1.381
	25	2.622	0.184
	27	2.839	1.984
Euisung	4	3.281	0.041
	9	1.560	0.073
Miryang	4	4.042	0.058
Chongdo	1	3.408	0.051
Taebaeksan		3.622	0.056
Kumsungsan		3.814	0.045

공시 계통들의 albiflorin 함량은 0.04~1.98%로 paeoniflorin 함량 1.56~4.04%에 비해 전체적으로

낮은 양상을 나타내었다. 풍기 계통들의 paeoniflorin 함량은 2.52~2.84%로 다른 공시 계통의 함량인 3.28~4.04% 보다 비교적 낮았으나, albiflorin 함량은 0.10~1.98%로 다른 공시 계통의 0.04~0.07% 보다 현저하게 높았고, 그 함량의 변이 폭도 큰 것으로 나타났다. Ikeda 등⁵⁾은 중국, 일본, 북한, 한국산 수집 작약에서 albiflorin 함량의 범위가 0.09~2.76% 범위에 존재한다고 보고하였는데, 한국산과 북한산은 각각 0.29~0.42%와 0.35~1.48%이고, 중국산이 0.09~2.76% 그리고 일본산은 0.34~2.37%로 수집지역 및 계통별로 함량의 차이가 있었음을 보고하였고, 일부 albiflorin이 함유되지 않은 계통도 확인하였다. 이들 중 특히 한국산의 albiflorin 함량이 낮은 것은 공시된 수집계통의 수가 적은데 그 원인이 있다고 추정된다.

한편 albiflorin 함량과 paeoniflorin 함량간에 일정한 상관관계는 없었으나, paeoniflorin 함량이 높았던 의성 4호, 밀양 4호, 청도 1호 및 산작약 2계통의 albiflorin 함량은 낮았으며, paeoniflorin 함량이 낮았던 풍기계통의 albiflorin 함량은 기타 공시 계통보다 높았다. 최근 Sugaya 등¹³⁾은 albiflorin의 활성효과를 강조하였고, Ikeda 등⁵⁾은 작약근 품질 평가시 paeoniflorin 외에 albiflorin을 포함한 생리활성물질의 총체적 평가가 중요하다고 보고하였다. 또한 paeoniflorin과 albiflorin의 함량은 계통간에 현저한 차이가 있음을 예상할 수 있으므로 양질의 작약 품종선발 가능성이 기대되며, 또한 작약 품종선발시 이들 활성물질의 함량이 동시에 검정되어야 할 것으로 판단된다.

摘 要

한국산 재배작약(*Paeonia lactiflora* Pall.)에서 작약근의 주 활성물질로 평가되는 paeoniflorin과 albiflorin을 분리하였고, 국내 재배작약 10계통간에 paeoniflorin 과 albiflorin의 함량을 정량적으로 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 한국산 재배작약으로 부터 silicagel column chromatography를 실시하여 paeoniflorin 과 albiflorin을 분리하였고, 그 화학적 구조를 분광학적

방법(UV, FT-IR, ^1H - ^{13}C -NMR)으로 확인 하였으며, HPLC 상대순도는 각각 98%, 93% 였다.

2. 국내 재배작약 10계통의 paeoniflorin 함량을 조사한 결과 1.56%~4.04%의 범위를 나타내었으며, 이들 중 의성 9호가 1.56%로 가장 낮았고, 밀양 4호가 4.04%로 가장 높은 양상을 나타내어 재배 계통간에 차이가 있음을 확인하였다.

3. 국내 재배작약 10계통의 albiflorin 함량은 의성 4호가 0.04%로 가장 낮은 함량을 나타 내었고, 풍기 27호가 1.98%로 가장 높아 계통간 차이가 뚜렷하였고, 조사된 10계통 중 풍기 계통은 0.10%~1.98%로 기타 계통보다 함량이 월등히 높았다.

引用文獻

1. 鄭名根. 1993. 작약(*Paeonia lactiflora* Pall.)의 생육시기 및 건조방법에 따른 성분변화. 嶺南大學校 大學院. 碩士學位論文.
2. 赤眞清人 外. 1991. 第十二改正 日本 藥局方 解説書. 東京 廣川書店.
3. Hayashi, T., T. Shinbo, M. Shimizu, M. Arisawa, N. Morita, M. Kimura, S. Matsuda and T. Kikuchi. 1985. Paeonilactone-A, -B, and -C, new monoterpenoids from paeony root. *Tetrahedron Letters*. 26(31) : 3699-3702.
4. Huiying, L., L. Shouzhen, T. McCabe and J. Clardy. 1984. A new monoterpene glucoside of *Paeonia lactiflora*. *Planta Med.* 50 : 501-504.
5. Ikeda, N., T. Fukuda, H. Jyo, Y. Shimada, N. Murakami, M. Saka and M. Yoshikawa. 1996. Quality evaluation on *Paeoniae radix*. I. Quantitative analysis of monoterpene glycosides constituents of *Paeoniae radix* by means of high performance liquid chromatography. Comparative characterization of the external figures, processing method and the cultivated areas. *Yakugaku Zasshi*. 116(2) : 138-147.
6. Kaneda, M., Y. Itakawa and S. Shibata. 1972. Chemical studies on the oriental plant drugs X. The absolute structures of paeon-

- iflorin, albiflorin, oxypaeoniflorin and benzoylpaeoniflorin isolated from Chinese peony root. *Tetrahedron* 28 : 4309-4317.
7. 강광희, 정상환, 정명근. 1992. 高 Paeoniflorin 芍藥 品種 選拔에 관한 研究. 科學技術處. UR 대응 농업기술 개발 과제.
 8. 姜光熙, 鄭名根. 1994. 芍藥生育時期에 따른 藥根 收量 및 Paeoniflorin含量 變化. 韓作誌. 39(4) : 397-404.
 9. 姜光熙, 鄭名根. 1994. 芍藥의 뿌리 굵기에 따른 成分含量 差異. 藥作誌. 2(2) : 149-153.
 10. Kang, S. S., J. S. Kim, H. S. Yun, and B. H. Han. 1993. Phytochemical studies on *Paeoniae Radix*. *Kor. J. Pharmacogn.* 24(3) : 247-250.
 11. Kobayashi, M., C. Ueda, S. Aoki, K. Tajima, N. Tanaka and J. Yama hara. 1990. Anticholinergic action of peony root and its active constituents. *Yakugaku Zasshi.* 110(12) : 964-968.
 12. Nishizawa, M., T. Yamagishi, G. I. Nonaka and I. Nishioka. 1980. Structure of gal-
lotannins in *Paeoniae radix*. *Chem. Pharm. Bull.* 28(9) : 2850-2852.
 13. Shibata, S. and M. Nakahara. 1963. Studies on the constituents of Japanese and Chinese crude drugs. VIII. Paeoniflorin, a glucoside of Chinese paeony root(1). *Chem. Pharm. Bull.* 11 : 372-378.
 14. Shimizu, M., T. Hayashi, N. Morita, I. Kimura and M. Kimura. 1981. Paeoniflorigenone, a new monoterpene from peony root. *Tetrahedron Lett.* 22 : 3069-3070.
 15. Sugaya, A., T. Suzuki, E. Sugaya, N. Yuyama, K. Yasuda and T. Tsuda. 1991. Inhibitory effect of paeony root extract on pentylenetetrazol-induced EEG power spectrum changes and extracellular calcium concentration changes in rat cerebral cortex. *J. Ethnopharm.* 33 : 159-167.
 16. Takagi, K. and M. Harada. 1969. Pharmacological studies on herb paeony root. II. Anti-inflammatory effect, inhibitory effect on gastric juice secretion, preventive effect on stress ulcer, antidiuretic effect of paeoniflorin and combined effects with licorice component F_M 100. *Yakugaku Zasshi.* 89(7) : 887-892.
 17. Takeda, S., T. Isono, Y. Wakui, Y. Matsuzaki, H. Sasaki, S. Amagaya and M. Maruno. 1995. Absorption and excretion of paeoniflorin in rats. *J. Pharmacol.* 47 : 1036-1040.