

사삼의 품질 관리에 관한 연구

박연경 · 유혜현 · 백승훈 · 이승호¹ · 김창민² · 이경순³ · 박만기 · 박정일*

서울대학교 약학대학, ¹영남대학교 약학대학

²강원대학교 약학대학, ³충북대학교 약학대학

Quality Control of *Adenophorae Radix*

Yun Kyung Park, Hye Hyun Yoo, Seung Hoon Baek, Seung Ho Lee¹, Chang Min Kim²,
Kyung Soon Lee³, Man Ki Park, and Jeong Hill Park*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

¹College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

²College of Pharmacy, Kangwon National University, Kangwon 200-701, Korea

³College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract – This study is to establish the quality control method of *Adenophorae Radix*. (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol (**1**) isolated from this plant was adequate as an analytical marker. Content of **1** in *Adenophorae Radix* was $0.006 \pm 0.003\%$ ($n=43$). In addition, total ash content was $6.5 \pm 4.0\%$, and loss on drying was $12.1 \pm 2.1\%$.

Key words – *Adenophorae Radix*, determination, HPLC, (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol

사삼은 잔대 *Adenophora triphylla* var. *japonica* Hara 및 동속식물(도라지과, Campanulaceae)의 뿌리로 엷은 황백색~회갈색을 띠며 위쪽에는 뚜렷한 운상의 가로줄름이 있고 아래부분은 세로 및 가로줄름이 있다.^{1,2)} 각각의 기원식물에 따라 약간씩 차이는 있으나 주로 β -sitosterol,^{3,5,7)} lupenone,^{5,7)} daucosterol,⁶⁾ triphyllol,⁵⁾ adenophoric acid methyl ester⁵⁾ 등을 함유하고 있으며, 한방에서 주로 거담(祛痰)작용, 강심(強心)작용 등의 효능을 지니는 약재로 널리 쓰이고 있다.

현재까지 사삼의 약효와 성분에 관한 여러 연구자료가 보고되었지만 실제로 시중에 유통되고 있는 사삼의 품질 관리 기준에 관한 연구는 아직 확립되어 있지 않다. 따라서 사삼의 분석법을 확립하고 품질관리 기준을 설정하기 위하여 지표물질을 선정함과 동시에 적절한 정량법이 필요하다.

이에 본 실험에서는 생약 규격화 연구의 일환으로 사삼의 품질관리를 위한 지표성분을 설정하고 실제 사삼 중의 함량을 분석하여 사삼의 품질관리 기준을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에서는 2001년 4월에 우리나라 여러 지역에서 시판되고 있는 사삼 43종을 구입하여 감별한 후 건조하여 사용하였다.

시약 및 기구 – HPLC용 용매는 덕산 케미컬사 제품을 NMR용 용매는 Aldrich사 제품을 그 외 분리, 분석용 시약은 모두 특급시약을 사용하였다. 다공성 폴리머인 Diaion® HP-20 (SUPELCO INC. USA)을 사용하였으며, 컬럼 크로마토그래피용 실리카겔은 Kieselgel (230-400 mesh ASTM, Merck Art. 9385)를 사용하였고, TLC용 precoated plates는 Kieselgel 60 F₂₅₄ (20 cm×20 cm, layer thickness 0.25 mm, Merck Art. 5715)을 사용하였다. 또한 기기로는 NMR (Jeol, JNM-GSX 500, 500 MHz), MASS (Jeol, JMS-AX 505 WA), HPLC system (Hitachi, Pump L-7000, Autosampler L-7200, Diode Array Detector L-7450 A, Japan)을 사용하였다.

회분시험 – 대한약전의 회분시험법에 따라 사기제 도가니를 550°C에서 1시간 강열하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 사삼 시료 약 2g을 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달고 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온

*교신저자(E-mail) : hillpark@snu.ac.kr
(FAX) : 02-874-8928

도를 올려 함량이 될 때까지 550°C에서 강열하였다. 방냉한 후 그 무게를 측정하였다.

건조감량시험 - 대한약전의 건조감량시험법에 따라 사기재 도가니를 105°C에서 1시간 건조하여 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달았다. 사삼 시료 약 2g을 앞의 도가니에 넣어 그 무게를 정밀하게 달고 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온도를 올려 함량이 될 때까지 105°C에서 건조하였다. 방냉한 후 그 무게를 측정하였다.

지표성분의 분리 - 사삼 5kg에 MeOH을 가하고 3시간씩 3회 환류추출하였다. 추출액을 감압상태에서 증발시켜 950g의 추출물을 얻었다. 그 중 약 500g의 추출물을 취해 물에 현탁시킨 후 CH₂Cl₂로 추출하였다. CH₂Cl₂층을 감압상태에서 증발시켜 20g의 추출물을 얻었다. 추출물을 silica coating한 후 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하였다. 이동상의 조성을 CHCl₃:MeOH:H₂O(20:1:0.01→10:1:0.01)로 기울기용리하면서 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 총 4개의 분획으로 나누었고, 이 중 2번 분획을 CHCl₃:MeOH:H₂O (18:1:0.01)의 조건으로 다시 실리카겔 컬럼크로마토그래피를 실시하여 compound 1를 분리했다.

Compound 1 - syrup, FAB-MS : $m/z=257$ [M+Na]⁺, ¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz, δ ppm) : 6.4 (1 H, p, $J=6.8$), 5.8 (1 H, q, $J=6.9$), 4.2 (1 H, d, $J=6.5$), 4.0 (1 H, t, $J=6.6$), 3.6 (2 H, t, $J=6.4$), 2.2 (2 H, t, $J=6.7$), 1.8 (3 H, dd, $J=6.8, 1.6$), 1.7 (2 H, d, $J=6.8$); ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz, δ ppm) : 17.4, 28.3, 31.6, 60.8, 66.3, 69.7, 71.0, 75.1, 76.5, 80.1, 109.0, 128.2, 133.7, 143.7

표준액의 조제 - Compound 1 3.28 mg을 정확히 달아 MeOH 20 mL에 녹였다. 이 액을 25, 50, 100, 200 μ L를 취하여 vial에 넣은 후 질소 기류하에서 증발 건조시켰다. 그 잔사에 MeOH 1 mL를 가하여 잘 녹인 액을 표준액으로 하였다.

검액의 조제 - 분말화한 사삼 1g을 취하여 마개있는 시험관에 넣은 후 MeOH 5 mL를 가하고 50°C에서 1시간 동안 초음파 추출하였다. 추출액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 검액으로 하였다.

HPLC 조건 - 표준액 및 검액의 HPLC 조건은 다음과 같다. Column : Mightysil RP-18 (5 μ m, Kanto chemical), Injection volume : 50 μ L, Eluent : MeOH : H₂O (30 : 70에서 100 : 0으로 30분간 gradient), Flow rate : 1 mL/min, Detector : UV detector (220 nm).

Compound 1의 정량 - 위의 표준액을 이용하여 검량선을 작성한 후, 사삼 43종의 각각의 검액에 대해 HPLC를 실시하여 얻은 크로마토그램의 면적으로부터 compound 1을 정량하였다.

결과 및 고찰

생약 품질 관리 기준을 위한 지표성분은 실험 대상 생약의 특이 성분인면서 함량이 비교적 많고 그 편차가 작으면서 분석이 쉬워야 한다. 이에 43개의 사삼 추출물을 자외부 흡광광도계(220 nm)를 이용하여 액체크로마토그래피를 실시하여 각 검액의 크로마토그램을 비교 분석하였다.

HPLC 결과 여러 피크들이 나타났으나, 그 중 자외부 흡광이 크며 43종의 사삼 시료에 공통적으로 존재하는 성분을 지표성분으로 선정하여 compound 1이라 명명하였다. 사삼 추출물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피하여 compound 1 약 10 mg을 분리하였고, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 질량분석 등을 통하여 구조를 동정하였다. 문헌과 비교한 결과 compound 1은 (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol로 구조를 확인하였다(Fig. 1).⁴⁾

사삼 검액의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 2와 같고, compound 1의 피크는 19.5분에 나타났다. 표준액의 농도와 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였고, 표준액의 농도 4.1~32.8 μ g/mL에서 좋은 직선성을 보였다($R^2=0.999$). 표준액의 검량선으로부터 각 시료 중 compound 1의 함량을 구한 결과는 Table I과 같고, 43개 사삼에 함유된 지표성분의 함량은 $0.006 \pm 0.003\%$ 였다.

43종의 사삼 시료에 대해 대한약전의 회분시험법과 건조

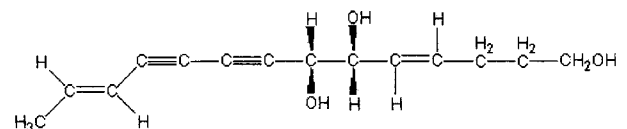


Fig. 1. Structure of (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol (compound 1).

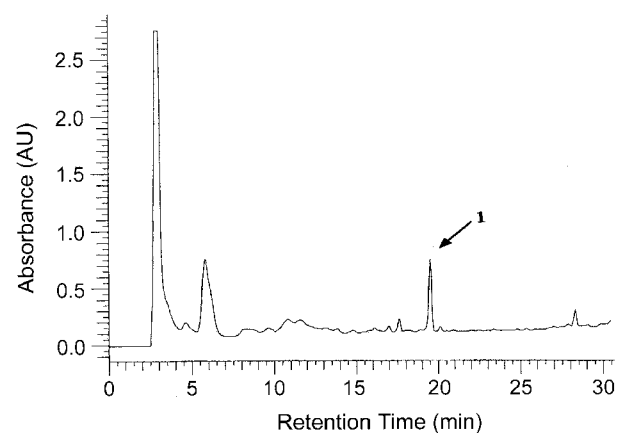


Fig. 2. Typical HPLC chromatogram of Adenophorae Radix (1: (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol).

Table I. Analytical results of *Adenophorae Radix*

Sample No.	Loss on drying (%)	Total ash (%)	Contents ^{a)} (%)	Sample No.	Loss on drying (%)	Total ash (%)	Contents ^{a)} (%)
1	9.95	19.55	0.005	24	11.45	7.73	0.004
2	9.88	10.05	0.007	25	10.30	4.97	0.005
3	14.65	3.64	0.010	26	11.00	3.60	0.007
4	10.29	18.00	0.007	27	11.08	3.64	0.011
5	10.69	4.23	0.005	28	10.31	5.26	0.005
6	10.70	4.53	0.006	29	10.23	5.26	0.002
7	12.20	11.99	0.004	30	10.30	4.99	0.008
8	11.05	4.96	0.005	31	9.91	3.90	0.002
9	10.30	17.54	0.005	32	9.91	3.90	0.002
10	11.77	4.38	0.010	33	11.45	7.71	0.002
11	11.77	4.68	0.006	34	12.37	5.67	0.006
12	14.65	3.64	0.008	35	12.35	5.67	0.008
13	11.05	4.96	0.005	36	12.55	8.90	0.006
14	9.78	9.20	0.010	37	12.55	7.90	0.005
15	9.73	9.08	0.002	38	17.01	8.70	0.003
16	11.84	3.43	0.003	39	12.99	4.90	0.006
17	11.84	3.43	0.008	40	12.97	4.90	0.010
18	14.13	4.30	0.006	41	17.01	9.50	0.006
19	14.09	4.30	0.018	42	13.45	3.20	0.005
20	11.37	3.51	0.002	43	13.49	3.25	0.004
21	11.37	3.51	0.006	Mean	12.1	6.5	0.006
22	17.17	6.79	0.007	S.D.	2.1	4.0	0.003
23	17.17	6.79	0.008				

^{a)}Contents of (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol

감량시험법에 따라 시험한 결과, 회분함량과 건조감량은 각각 $6.5 \pm 4.0\%$, $12.1 \pm 2.1\%$ 였다(Table I).

결 론

사삼은 예로부터 인삼, 현삼, 단삼, 고삼 등과 함께 5삼(五蔘)이라 불리우며 건강식품으로 널리 식용되어 온 천연물로서 그 약효와 성분에 관한 연구는 광범위하게 이루어져왔으나 정작 품질관리를 위한 기준은 아직 확립되어있지 않다. 따라서 본 연구에서는 이를 확립하기 위해 우리나라에서 현재 유통되고 있는 43종의 사삼을 수집하여 대한약전 일반시험법 중 생약시험법에 따라 건조감량과 회분함량을 측정하였고, 사삼의 지표성분을 설정하고 이를 정량할 수 있는 분석법을 연구하여 사삼의 품질관리 기준을 설정하고자 하였다. 사삼 43 시료를 분석한 결과 건조감량은 $12.1 \pm 2.1\%$, 회분 함량은 $6.5 \pm 4.0\%$ 로 나타났다. 따라서 사삼의 건조감량 기준은 14.0% 이하로, 회분함량 기준은 10.0% 이하로 설정해야 할 것으로 판단되었다. 사삼 시료 중 (6R,7R)-E,E-tetradeca-4,12-diene-8,10-diyne-1,6,7-triol(1)은 강한

자외부 흡광이 있기 때문에 HPLC 분석 또한 용이하여 적은 시료 양으로도 충분히 분석이 가능했다. 게다가 compound 1은 사삼과 혼용하기 쉬운 더덕에는 아주 소량만이 함유되어 있어 HPLC 크로마토그램에서 그 피크가 거의 나타나지 않으므로 더덕과 사삼을 구분하기에 적합하며, 따라서 사삼의 품질관리 지표성분으로 적합하다고 생각된다. 사삼 시료 중의 compound 1의 함량은 $0.006 \pm 0.003\%$ ($n=43$)로 함량 기준은 0.003% 이상이 적당할 것으로 생각된다.

인용문헌

1. 김수철, 안상득, 이상래(1994) 원색백두산자원식물, 632. 아카데미서적, 서울.
2. 배기환(2000) 한국의약용식물, 482. 교학사, 서울.
3. H.X. Kuang., C.J. Shao, R. Kasai., K. Ohtani and O. Tanaka., (1991) Phenolic glycosides from Roots of *Adenophora tetraphylla* collected in Heilongjiang, China. *Chem. Pharm. bull.*, **39**(9): 2440-2442.
4. M. Yuda., K. Ohtani., K. Mizutani., R. Kasai., O. Tanaka., M. R. Jia., Y.R. Ling., X.F. Pu and Y. Saruwatari., (1990).

- Neolignan Glycosides from roots of *Codonopsis Tangshen*, *Phytochemistry*, **29**(6): 1989-1993.
5. C. Konno., T. Saito., Y. Oshima., H. Hikino and C. Kabuto, (1981) Structure of methyl adenophorate and triphyllol, triterpenoids of *adenophora triphylla* var. *japonica* roots. *Planta medica*, **42**: 268-274.
6. P.G. Gorovoi., G.I. Ponomarchuk and L.I. Strigina., (1971) A Chemotaxonomic study on Russian far-eastern Campanulaceae, *Phytochemistry*, **10**: 2419-2423.
7. Z. T. Wang., G. Y. Ma., P. F. Tu., G. J. Xu and T. B. Ng., (1995) Chemotaxonomic Study of *Codonopsis* (Family Campanulaceae) and its related genera, *Biochemical Systemics and Ecology*, **23**(7/8): 809-812.

(2002년 10월 15일 접수)