

백수오와 하수오의 패턴분석 연구

김호경* · 김영아 · 이아영 · 고병섭¹
한국한의학연구원 검사사업부, ¹한약제제연구부

Pattern analysis of *Cynanchi Wilfordii Radix* and *Polygoni Multiflori Radix*

Ho Kyoung Kim*, Young A Kim, A Yeong Lee, and Byoung Seob Ko¹

Department of Quality Control of Herbal Medicine,

¹Department of Herbal Research, Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea

Abstract – *Cynanchi Wilfordii Radix* has been used for the treatment of prematurely grey hair, bald and constipation and *Polygoni Multiflori Radix* has been used for the treatment of weakness, knee pain, premature greying, elevated serum cholesterol, coronary heart disease, neurasthenia and insomnia. Pattern recognition for the analysis of *Cynanchi Wilfordii Radix* and *Polygoni Multiflori Radix* was conducted using HPLC method. Pattern of *Cynanchi Wilfordii Radix* and *Polygoni Multiflori Radix* was different and we distinguished two medicinal plants by HPLC.

Key words – *Cynanchi Wilfordii Radix*, *Polygoni Multiflori Radix*, Pattern analysis, HPLC method

백수오(白首烏, *Cynanchi Wilfordii Radix*)는 *Cynanchum wilfordii* (Maxim.) Hemsley, *Cynanchum bungei* Dence, *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight (락주과리과 Asclepiadaceae) 등의 덩이뿌리로 한국이 원산지이며, 하수오(何首烏, *Polygoni Multiflori Radix*)는 *Polygonum multiflorum* Thunberg (마디풀과 Polygonaceae)의 덩이뿌리로서 중국이 원산지이다. 백수오(白首烏)와 하수오(何首烏)는 기원식물이 다르고 유기성분계도 하수오는 anthraquinone 유도체 및 stilbene 유도체로 백수오와는 전혀 다른 것이다.^{1,2,3)}

한방에서 백수오는 자양(滋養), 강장(強壯), 보혈(補血) 및 익정(益精)의 약효가 있고 하수오는 강장, 강정, 보혈 사하약으로서 혈허위황(血虛萎黃), 수발조백(鬚髮早白), 유정붕대(遺精崩帶), 옹저나력(癰疽瘰癧), 장조변비(腸燥便秘) 등에 사용된다.^{1,2,3,4)}

백수오의 성분으로는 phosphatidyl choline, phosphatidyl-ethanol amine, phosphatidyl inositol 등과 steroidal glycoside로써 wilfoside 등과 이들의 aglycone으로 sarcostin, deacylcynanchogenin, deacylmetaplexigenin, kidjoranin, caudatin, penupogenin, wilforine 등이 있으며 이들의 sugar로서 wilforbiose, *d*- and *l*-cymarose, *l*-diginose 등이 포함되어 있으며, 이들의 steroidal glycoside를 cynanchotoxin 이라

고도 한다. 기타 cinnamic acid, cynanchol, benzophenone 등이 포함되어 있다. 하수오의 성분으로는 anthraquinone 화합물인 emodin, chrysophanol, rhein, physcion 및 이들의 배당체와 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene, 2-O-β-D-glucopyranoside 및 2"-O-monogalloyl ester, 3"-O-monogalloyl ester 등이 있다.^{5,6,7,8,9)}

백수오는 중국, 대만 및 일본에서는 거의 사용되지 않는 약재이며 주로 하수오를 사용하고 국내에서는 백수오가 훨씬 많이 사용되고 있는데 백수오와 하수오는 그 기원식물이 다름에도 혼용되어 사용되고 있는게 현실이므로 객관적인 품질평가 방법인 이화학적 평가법의 일환으로 HPLC를 통한 크로마토그램 패턴을 비교 분석하여 보다 간편하게 백수오와 하수오를 구별 할 수 있는 기준을 제안하고 아울러 건조감량, 회분함량 및 산불용성 회분함량을 비교 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 연구에 사용한 국산인 백수오(白首烏, 7종)와 중국산인 하수오(何首烏, 4종)는 2002년 우석대학교 한의과대학 본초학교실에서 수집하여 주영승 교수님이 감정한 후 분쇄하여 사용하였으며 표품(KIOM-02-14)은 한국한의학연구원 생약표본실에 보관되어 있다.

*교신저자(E-mail) : hkkim@kiom.re.kr
(FAX) : 02-3442-0220

시약 및 기기 - 본 실험에 사용된 시료의 추출 및 분석에는 1등급 용매를 사용하였으며 methanol, ethyl ether은 TEDIA사 (U.S.A) HPLC grade 제품을 사용하였고 분석 기기로 사용된 HPLC는 Shimadzu사(Japan)의 SCL-10Avp system controller, SIL-10ADvp auto injector, SPD-10Avp UV-VIS detector, LC-10ATvp liquid chromatograph를 사용하였다. TLC plate는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck)와 RP-18 F_{254s}(Merck)를 사용하였다.

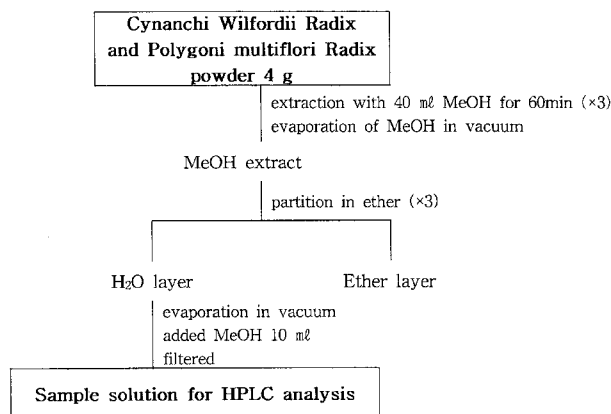
건조감량시험 - 무게를 단 칭량병에 시료 2~6 g을 넣어 무게를 정밀하게 측정하여 105°C에서 5시간 건조하고, 데시케이터에서 방랭한 후 그 무게를 정밀하게 측정하였다. 이것을 다시 105°C에서 1시간마다 무게를 측정하여 항량이 되었을 때의 감량을 건조감량(%)으로 하였다.

회분시험 - 사기도가니를 550°C에서 1시간 이상 강열하여 데시케이터에서 방랭한 후 그 무게를 정밀히 달았다. 시료 2~4 g을 사기도가니에 넣어 무게를 정밀하게 측정 후 회화로에 넣어 서서히 온도를 올리면서 550°C에서 4시간 이상 가열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하여 데시케이터에서 방랭한 다음 무게를 정밀하게 측정하여 회분량(%)으로 하였다.

산불용성 회분시험 - 회분에 묶은 염산 25 ml를 천천히 조심스럽게 넣고 5분간 가만히 끓여 불용물을 정량용 여과지를 써서 여과한 후 열탕으로 잘 씻어 잔류물을 여과지와 함께 건조하였다. 무게를 정밀하게 측정 후 사기도가니에서 3시간 강열(550°C)하여 데시케이터에서 방랭한 후 그 무게를 정밀하게 측정하여 산불용성회분량(%)으로 하였다.

HPLC 조건 - HPLC는 Shimadzu LC-10Avp System으로서 SCL-10Avp system controller, LC-10ATvp liquid chromatograph, SPD-10Avp UV-VIS detector, SIL-10ADvp auto injector(Japan)를 사용하였다. Column은 Luna C₁₈ (4.6 × 250 mm, 5 μm, Phenomenex)를 사용하였고 이동상으로는 methanol : H₂O=15 : 85(v/v)가 되도록 하였다. 유속은 1.0 ml/min으로, UV Detector 파장은 254 nm에서 고정하여 실시하였다.

검액의 조제 - 검체 4.0 g을 정확히 평량하여 methanol 40 ml를 가해 실온에서 1시간씩 3회 sonication으로 추출, 여과 및 감압 농축하여 methanol 추출물을 얻었다. Methanol 추출물을 H₂O 10 ml에 녹인 후 동량의 ether로 3회 탈지한 다음 H₂O층을 감압 농축하였다. 이를 HPLC용 methanol 10 ml에 용해시킨 후 0.45 μm syringe filter로 여과한 여액을 검액으로 사용하였다(Scheme I). 각각의 검액을 10 μl씩 3회 반복하여 HPLC에 주입하여 pattern을 분석하였다.



Scheme I. Procedure for pattern analysis of Cynanchi Wilfordii Radix and Polygoni Multiflori Radix.

Table I. Contents of loss on drying, residue on ignition and residue on acid insoluble ignition from Cynanchi Wilfordii Radix and Polygoni Multiflori Radix (%)

Sample	Loss on Drying	Residue on Ignition	Residue on Acid Insoluble Ignition
Cynanchi Wilfordii Radix			
CWR-1	14.082	2.116	0.132
CWR-2	9.221	3.569	0.221
CWR-3	13.161	2.474	0.247
CWR-4	11.599	2.913	0.558
CWR-5	11.170	2.849	0.280
CWR-6	12.190	3.320	1.020
CWR-7	12.715	3.261	0.936
	12.020±1.571	2.929±0.508	0.485±0.362
Polygoni Multiflori Radix			
PMR-1	12.703	3.649	0.454
PMR-2	9.194	3.589	0.254
PMR-3	5.495	3.553	0.158
PMR-4	11.804	2.304	0.170
	9.799±3.232	3.274±0.648	0.259±0.137

결과 및 고찰

본 연구에서는 기원식물이 다른 백수오와 하수오를 이화학적 평가법의 일환으로 HPLC를 통한 패턴을 분석하여 보다 간편하게 구분할 수 있게 하고 건조감량, 회분함량 및 산불용성 회분 함량을 비교 분석하고자 백수오와 하수오의 시료를 검체로 사용하였고 건조감량, 회분함량 및 산불용성 회분함량을 대한약전 일반시험법에 규정하고 있는 방법에 의해 3회 반복 시험하여 얻은 평균치를 Table I에 정리하였다.

백수오와 하수오의 pattern을 분석하기 위해 HPLC법을 이용하였다. HPLC의 분석조건으로는 Phenomenex C₁₈

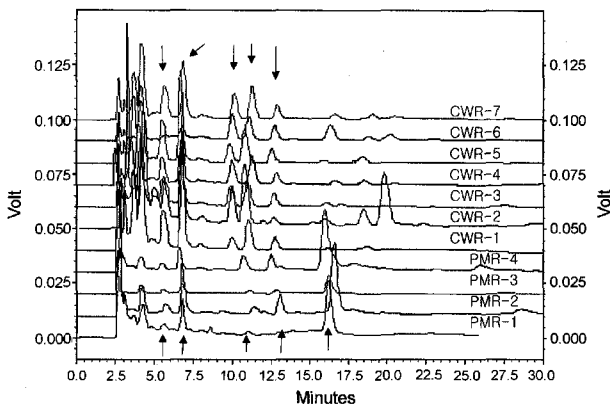


Fig. 1. HPLC chromatogram of Cynanchi Wilfordii Radix (CWR) and Polygoni Multiflori Radix (PMR).

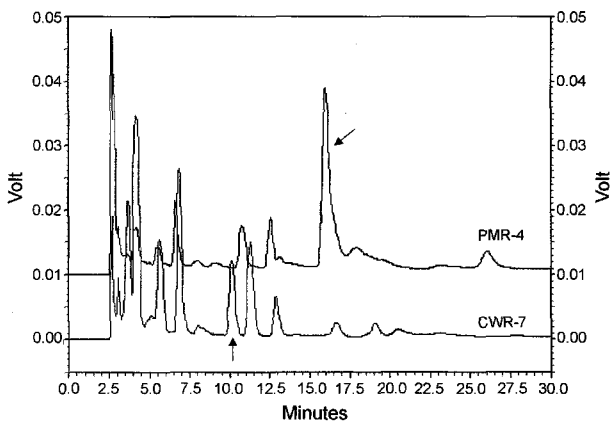


Fig. 2. HPLC chromatogram of Cynanchi Wilfordii Radix (CWR-7) and Polygoni Multiflori Radix (PMR-4).

column을 이용하여 methanol : H₂O=15 : 85(v/v)을 유속 1.0 ml/min으로 하였고, 검출파장은 254 nm에서 고정하여 실시하였다.

확보된 검체를 실험방법에 의거하여 HPLC를 통한 패턴 분석을 실험한 결과는 Fig. 1, 2와 같았다. 백수오와 하수오의 전반적인 크로마토그램 패턴은 큰 차이가 있었다. 백수오에서는 retention time 9.955분대에서 하수오는 16.204분대에서 주 peak가 검출되었고 이 외에도 5.545분, 6.737분, 10.986분 및 12.790분대에서 모두 양의 차이가 있었으나 공통적인 peak들이 검출되었다. 이는 백수오와 하수오가 기원 식물이 다르고 유기성분계도 하수오는 anthraquinone 유도체 및 stilbene 유도체로 백수오와는 전혀 다르다는 것을 증명해주고 있다. 따라서 백수오의 9.955분대의 peak와 하수오의 16.204분대의 peak는 백수오와 하수오를 구별할 수 있는 marker로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

건조감량 시험에서 백수오의 평균 및 표준편차는 12.020±1.571%(n=7)이었고, 시료에 따라 9.221%~14.082%로 차이를 보였으나 시료 모두 대한약전 외 한약(생약) 규격집¹⁾에

서 규정하고 있는 17.0% 이하였다. 하수오의 평균 및 표준편차는 9.799±3.232%(n=4)이었고, 시료에 따라 5.495%~12.703%로 차이를 보였으나 시료 모두 대한약전 외 한약(생약) 규격집에서 규정하고 있는 14.0% 이하였으며 백수오(12.020%)가 하수오(9.799%)보다 2.2%정도 높았다. 따라서 건조감량을 백수오는 17.0% 이하로 하수오는 14.0% 이하로 규정하는 것이 타당하리라 생각된다.

회분함량 시험에서 백수오의 평균 및 표준편차는 2.929±0.508%이었고 대한약전 외 한약(생약) 규격집에 규정하고 있는 4.0% 이하였으며 시료에 따라 2.116%~3.569%로 차이를 보였다. 하수오의 평균 및 표준편차는 3.274±0.648%이었고 대한약전 외 한약(생약) 규격집에 규정하고 있는 5.0% 이하였으며 시료에 따라 2.304%~3.649%로 차이를 보였으나 백수오(2.929%)보다 하수오(3.274%)가 0.3%정도 높았다. 따라서 회분함량을 백수오는 4.0% 이하로 하수오는 5.0% 이하로 규정하는 것이 타당하리라 생각된다.

산불용성 회분함량 시험에서 백수오의 평균 및 표준편차는 0.485±0.362%이었고, 시료에 따라 0.132%~1.020%로 차이를 보였으며 1개를 제외하고는 대한약전 외 한약(생약) 규격집에서 규정하고 있는 1.0% 이하였다. 하수오의 평균 및 표준편차는 0.259±0.137%이었고 시료에 따라 0.158%~0.454%의 분포를 나타냈으나 시료 모두 대한약전 외 한약(생약) 규격집에서 규정하고 있는 1.5% 이하였고, 백수오(0.485%)가 하수오(0.259%)보다 0.2%정도 높았다. 따라서 산불용성 회분함량을 백수오는 1.0% 이하로 하수오는 1.5% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 생각된다.

결론

1. 백수오와 하수오의 HPLC chromatogram 패턴은 전반적으로 다른 것으로 나타났다. 백수오에서는 양의 차이는 있으나 주 peak가 retention time 9.955분대에서 검출되었고 하수오에서는 백수오의 주 peak가 검출되지 않았으나 retention time 16.204분대에서 주 peak가 검출되어 백수오와 하수오를 구별할 수 있는 marker로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

2. 백수오와 하수오의 건조감량 시험결과 각각의 평균 및 표준편차는 12.020±1.571%, 9.799±3.232%로 시료 모두 대한약전 외 한약(생약) 규격집에서 규정하고 있는 17.0%, 14.0% 이하이므로 건조감량 기준을 백수오는 17.0% 이하로 하수오는 14.0% 이하로 규정하는 것이 타당하다고 생각된다.

3. 백수오와 하수오의 회분함량 시험결과 각각의 평균 및 표준편차는 2.929±0.508%, 3.274±0.648%로 시료 모두 대

한약전 외 한약(생약) 규격집에서 규정하고 있는 4.0%, 5.0% 이하이므로 회분함량 기준을 백수오는 4.0% 이하로 하수오는 5.0% 이하로 규정하는 것이 타당하리라 생각된다.

4. 백수오와 하수오의 산불용성 회분함량 시험결과 각각의 평균 및 표준편차는 $0.485 \pm 0.362\%$, $0.259 \pm 0.137\%$ 이었고 백수오의 시료 1개를 제외하고는 대한약전 외 한약(생약) 규격집에서 규정하고 있는 1.0%, 1.5% 이하이므로 산불용성 회분함량 기준을 백수오는 1.0% 이하로 하수오는 1.5% 이하로 규정하는 것이 타당하리라 생각된다.

사 사

본 연구는 2002년 표준한약개발연구(보건복지부)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 식품의약품안전청(2002) 대한약전 외 한약(생약) 규격집, 169, 397. 도서출판 동원문화사, 서울.
2. 전국한의과대학 본초학 교수 공동저(1991) 本草學, 499-500, 583-584. 영림사, 서울.
3. 中國醫學科學院 藥物研究所(1979) 中藥志, 328, 人民衛生出版社, 北京.
4. 赤松金芳(1940) 和漢藥, 143, 491, 醫藥學出版社, 日本.
5. Mitsuhashi H., Sakurai K., and Nomura T. (1966) Constituents of Asclepiadaceae plants. *Chem. Pharm. Bull.* **14**(7): 712-717.
6. Fujimoto, H., Satoh, Y., Yamaguchi, K., and Yamazaki, M. (1998) Monoamine oxidase inhibitory constituents from *Anixiella micropertusa*. *Chem. Pharm. Bull.* **46**: 1506-1510.
7. Hatano, T., Uebayashi, H., Ito, H., Shiota, S., Tsuchiya, T., and Yoshida, T. (1999) Phenolic constituents of Cassia seeds and antibacterial effect of some naphthalenes and anthraquinones on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chem. Pharm. Bull.* **47**: 1121-1127.
8. Yen, G. C., Chen, H. W., and Duh, P. D. (1998) Extraction and identification of an antioxidative component from Jue Ming Zi. *J. Agri. Food Chem.* **46**: 820-824.
9. Kuo, Y. C., Sun, C. M., Ou, J. C., and Tsai, W. J. (1997) A tumor cell growth inhibitor from *Polygonum hypolencum* Ohwi. *Life Science.* **61**: 2335-2344.

(2003년 11월 21일 접수)