

HPLC와 GC/MS를 활용한 약용식물 유래 phytochemicals 분석

조현정^{1,†} · 유동찬¹ · 조현남¹ · 판루안¹ · 김희준¹ · 강공원² · 정호순² · 양선아³ · 이인선³ · 지광환^{1,*}

¹금오공과대학교 응용화학전공, ²(주)케피로스,
³계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터

Analysis of Phytochemicals in Popular Medicinal Herbs by HPLC and GC-MS

Hyun-Jung Cho^{1,†}, Dong-Chan Yoo¹, Hyun-Nam Cho¹, Lu-An Fan¹, Hee-Joon Kim¹, Kong-Won Khang²,
Ho-Soon Jeong², Seun-Ah Yang³, In-Seon Lee³, and Kwang-Hwan Jhee^{1,*}

¹Department of Applied Chemistry, Kumoh National Institute of Technology

²Chephilos Corporation

³The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

Abstract Oriental herbs are reported as having potent functions for preventing many types of diseases. They also appear to have positive effects and potential capabilities for skin care. Among the many oriental herbs that are available, we chose to analyze four medicinal herbs, Korean red ginseng, *Artemisia capillaries* Thunb, *Schizonepeta tenuifolia* Briq, and *Foeniculum vulgare* Mill, because all are popular and considered as favorite medicinal plants in Korea. Extracts of the herbs were obtained by various methods such as using distilled water, ethyl ether, methanol, ethanol, benzene, 1-butanol, and chloroform. Nine phytochemicals were detected in the extracts: maltol, adenosine, b-pinene, menthone, pulegone, limonene, anethole, estragole, and fenchone, which reportedly have multi-functionalities. All phytochemicals were analyzed quantitatively by various chromatographic techniques such as HPLC and gas chromatography-mass (GC-MS) spectrometry. This article also presents the optimum conditions for extracting these 9 targeted phytochemical compounds that were derived from 4 popular oriental herbs, which could be useful for the efficient preparation of each phytochemical.

Key words: phytochemicals, medicinal herbs, high performance liquid chromatography, gas chromatography-mass spectrometry

서 론

약용 식물은 높은 약리학적 활성과 약한 독성을 가지는 특성으로 인해 오래전부터 치료를 위한 목적으로 사용되어 왔다(1). 약용 식물의 이러한 생리 활성은 phytochemicals이라고 하는 식물 유래의 유용 성분들에 의한 것이다. 약용 식물에 대한 유용 성분 분석과 생리활성에 대한 연구가 활발한 가운데 약용 식물 유래의 의약품들을 포함한 그 외의 제품들이 일본, 한국, 인도 등지에서 광범위하게 이용되고 있다(2). 약용식물의 이러한 산업적인 이용을 위하여 품질 관리가 필수적인데 이를 위해서는 효과적인 정량법과 성분 분석이 중요한 요소이다(3).

예로부터 홍삼, 인진쑥, 형개, 회향 등은 인체에 유용한 약용식물로 알려져 한국과 중국 등지에서 광범위하게 이용되는 약재이다. 인삼은 홍삼(Korean red ginseng)의 원료이고 고온고압 하에

서의 홍삼 제조 시, maillard 반응 생성물들이 홍삼의 항산화 활성을 증진시키는 것으로 보고되어 있다(4,5). Maltol은 수삼을 홍삼으로 제조 시 증숙 과정 중 열처리에 의해 2차적으로 생성되는 홍삼 특유의 성분으로 알려져 있으며(6,7) 홍삼의 항산화 활성을 나타내는 대표적인 phenolic compound로서 지질등의 과산화방지를 하는 등 노화 방지 효과가 뛰어나다. 또한 신체 내부의 간기능과 심기능을 높혀 노화물질의 축적을 억제하여 빠른 피로회복의 효과도 보인다(8). Adenosine은 adenosine triphosphate(ATP)와 adenosine diphosphate(ADP)의 변환에서 인산기를 운반하여 에너지 대사를 조절하는 중요한 인자이며, cyclic adenosine monophosphate(cAMP)의 형태로 신호전달에서도 중요한 역할을 한다(9). 또한 주름개선 효과가 알려져 있어 화장품산업에서도 중요성이 더해지고 있다(10). 인진쑥(*Artemisia capillaris* Thunb)은 국화과에 속하는 다년생 초본으로서 항산화작용, 간 보호 효과, 항염증 및 진통 효과, 항균작용, 항진균 활성, 담즙분비 효과, 당대사 개선 효과, 항암 효과, 혈압 강하작용 등의 약리효과가 보고되어 있다(11,12). 인진쑥의 주요 성분으로는 alkaloid, 정유류, 각종 무기질 및 비타민류 등이 있고 특히 정유에는 cineole, sesquiterpene, scopoletin, choline, 및 capillarsin등이 함유되어 있다(13-16). Scopoletin은 혈액순환을 돕고 평활근을 이완시켜 빠른 피로회복을 돕는다는 보고가 있다(17). 형개(*Schizonepeta tenuifolia* Briq)의 주요 성분으로는 정유 및 flavonoid등이 알려져 있으며 정유는 d-menthone, l-pulegone을 주성분으로 하고, d-limonene, isopulegone, β-pinene

*Corresponding author: Kwang-Hwan Jhee, Department of Applied Chemistry, Kumoh National Institute of Technology, Gumi, Gyeong-Sangbuk-do 730-701, Korea
Tel: 82-54-478-7837
Fax : 82-54-478-7710

E-mail : khjhee@kumoh.ac.kr

†Present address: Molecular Bioprocess Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology
Received April 22, 2008; revised June 4, 2008;
accepted June 4, 2008

등의 monoterpene과 caryophyllene, β -elemene, β -humulene 등으로 구성되어 있다(18,19). 이 중에서 pulegone은 항혈소판 응집작용과 지혈작용을 하며(20), menthone은 해열, 소염 및 지혈작용에 대한 보고가 있으며(21) β -pinene은 항바이러스와 항균활성이 있다(22). 회향(*Foeniculum vulgare* Mill)은 방향족 식물로서 오래전부터 의학적 목적이나 향신료로서 흔히 이용되어 왔다. 회향의 열매는 이뇨작용, 진통작용, 해열작용 및 항산화작용을 하는 것으로 보고된 바 있다(23). 주요 성분으로는 fenchone, anethole, estragole, limonene 등이 있다(24). Fenchone은 항균 및 항진균 활성이 있고(25), anethole은 지방의 대사를 돕고 소화를 촉진시켜 주며, 중추억제와 혈관확장 기능을 하며(26), estragole은 소독 살균작용을 한다(27). 본 연구는 홍삼, 인진쑥, 형개, 회향의 약용 식물로부터 유용성의 보고가 있는 9가지 화합물 즉 maltol, adenosine, fenchone, anethole, estragole, limonene, pulegone, β -pinene, menthone을 추출방법에 따라 동정하고 정량적으로 분석하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 연구에 사용한 홍삼(Korean red ginseng), 인진쑥(*Artemisia capillaries* Thunb), 회향(*Foeniculum vulgare* Mill), 형개(*Schizonepeta tenuifolia* Briq)은 금산 재래시장에서 구입하였다. 표준물질인 maltol, adenosine, anethole, estragole, fenchone은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고 β -pinene, menthone, pulegone, limonene은 Fluka Co.(Buchs, Switzerland)에서 구입하였다. HPLC grade acetonitrile과 methanol은 Merck(New Jersey, USA)에서 구입하였고 그 외의 용매들 즉 ethanol, ethyl-ether, isopropanol, butanol, chloroform, benzene 등은 Duksan Co.(Korea)에서 구입하였다.

추출

홍삼 11 g을 분쇄기(CJ-10CB, Saitama, Japan)로 분쇄하여 만든 10.4 g의 홍삼가루를 200 mL의 증류수에서 9시간 동안 90°C에서 열수 추출로 홍삼 추출물을 얻었다. 홍삼 추출물은 여과하여 동결 건조하였고, 총 1.3 g의 잔여물로서 12.5%의 수율을 나타내었다. 인진쑥 5 g, 형개 5 g, 회향 10 g을 각각 methanol, ethanol, ethyl ether, isopropanol, butanol, chloroform, benzene 40 mL에 넣고 55°C에서 12시간 동안 추출 하였다. 얻어진 추출물은 filtering 과정을 거친 후, 50°C의 감압 환경 하에서 농축하였다. 검출하고자 하는 phytochemical 성분들의 화학 구조식은 Fig. 1에 나타내었다.

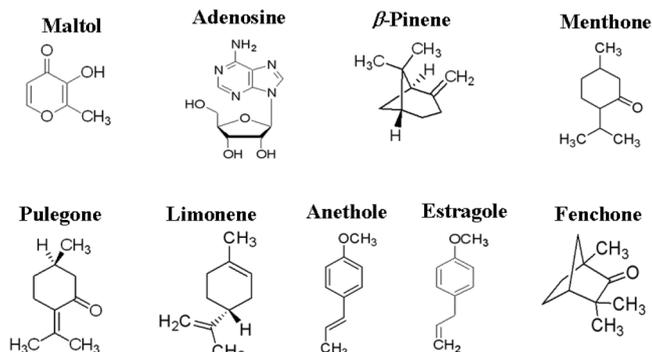


Fig. 1. Chemical structures of analyzed phytochemicals.

HPLC 분석

홍삼 추출물 분말 10 mg을 1 mL의 증류수에 녹인 후 여과한 시료를 HPLC 분석에 사용하였다. Maltol과 adenosine 각각 1 mM의 용액을 pore size 0.22 μ m의 membrane(Millipore)으로 여과한 후, 각각의 샘플들을 HPLC(Shimadzu HPLC-20A prominence)로 분리하였다. Column은 YMC사의 C_{18} (4.6 mm I.d. \times 150 mm, 4 μ m)을 사용하였고 column 온도는 30°C로 하였으며 2가지의 buffer 시스템을 사용하였다. Buffer A는 0.01% trifluoroacetic acid(TFA)를 함유한 증류수를, buffer B는 0.01% TFA를 함유한 70% acetonitrile의 2가지 용매를 사용하여 0-5 min간 buffer B를 97%, 5-10 min간 buffer B를 93%, 10-15분간 buffer B를 88%, 20-25분간 buffer B를 70%로 설정하여 분석하였다. Maltol과 adenosine은 260 nm에서 검출하였으며 flow rate는 1 mL/min을 사용하였다. Maltol과 adenosine은 1-100 nmole의 농도범위에서 검량선을 작성하였다.

분광학적 분석

HPLC에서 정제한 maltol이 순수한 성분을 정확히 확인하기 위해 분광학적 분석을 하였다. 홍삼 추출물의 HPLC 분석 중 검출된 maltol 분획을 분취하여 UV-visible detector(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) 흡광도를 maltol 표준 물질의 흡광도와 비교하였다. 또한 HPLC에서 얻은 maltol 분획의 분자량을 정확히 확인하기 위해 MS (Waters Co., Milford, MA, USA)를 ESI positive ion mode에서 실시하였다. 세부 분석 조건은 capillary, 3.8 kV; cone voltage, 40; desolvation gas temperature, 350°C(flow rate, 350 L/hr); source temperature, 120°C이었다.

GC-MS 분석

농축된 추출물은 각 추출에 이용된 용매에 희석과정을 거친 후 filter 하였다. 목적으로 하는 volatile phytochemicals의 표준 시약, limonene, β -pinene, fenchone, menthone, anethole, pulegone, estragole을 hexane과 혼합하여 100 ppm의 시료를 준비한 후 filter 하였다. 준비된 약용 식물 추출물과 표준 물질은 GC-MS(Shimadzu GCMS-QP2010, Kyoto, Japan)를 이용하여 분석하였다. Column은 Agilent사의 DB-5MS(0.32 mm I.d. \times 60 m, 0.25 μ m)를 사용하였고 detector는 MS이고 ESI mode에서 70 eV의 에너지로 이온화하였으며 TIC의 SCAN mode에서 검출이온 질량범위 35-350으로 설정하여 각 질량스펙트럼 중에서 가장 강도가 강한 main fragment ion을 중심으로 라이브러리를 검색하여 물질 확인 분석을 하였다. Injector temperature는 260°C, detector temperature는 280°C이며 carrier gas는 helium을, flow rate는 5 μ L/min를 사용하였다. Oven temperature는 최초 40°C에서 5분 동안 유지한 후 4°C/min 속도로 200°C까지 상승시킨 후, 200°C에서 20°C/min 속도로 280°C까지 온도를 상승시킨 후 20분간 유지하였다.

결과 및 고찰

홍삼 추출물로부터 maltol과 adenosine의 분리 및 동정

홍삼 추출물의 분석에 앞서 홍삼에서 검출하고자 하는 성분 maltol, adenosine의 표준시료를 구입하여 HPLC를 이용하여 분리하였다. 재료 및 방법에서 서술한 HPLC의 조건으로 Fig. 2에서 보는 바와 같이 adenosine(b)과 maltol(c)을 분리할 수 있음을 확인하였다. Adenosine과 maltol의 retention time은 각각 7.5분과 11.5분이었다. 홍삼 11 g을 분쇄하여 가루로 만든 홍삼 10.4 g을 200 mL의 증류수에 넣고 90°C에서 9시간동안 열수 추출 후 동결

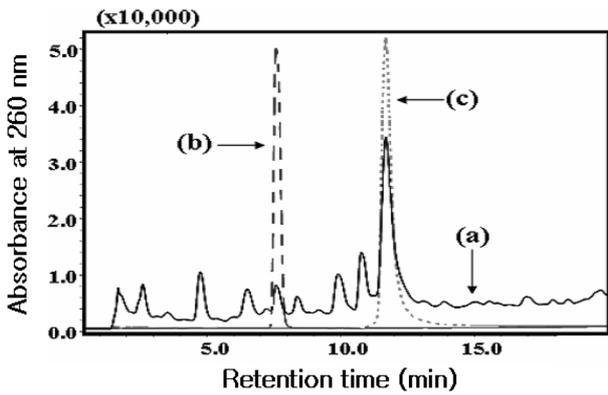


Fig. 2. HPLC analysis of Korean red ginseng extracts (a: solid line) and its composition with authentic compounds adenosine (b: long dotted line) and maltol (c: short dotted line). The two phytochemicals were separated and exhibited the same retention times as 7.5 min for adenosine, 11.5 min for maltol, respectively.

건조하여 얻은 powder의 양은 1.3 g으로 12.5%의 수율을 보였다. 홍삼 추출물은 10 mg/mL의 농도로 HPLC에 주입한 결과, Fig. 2의 (a)와 같이 여러 피크를 얻을 수 있었으며, adenosine과 maltol의 성분 함유 유무는 표준시료와의 retention time을 비교함으로써 확인하였다. 그리고 홍삼 추출물에서 HPLC로 분리된 maltol과 adenosine 성분을 표준물질의 검량선을 이용하여, 수율을 계산한 결과 1 g의 홍삼 추출물에 함유된 adenosine의 함량은 0.27 mg(0.027%)이었고 maltol은 10 mg(1%)이었다. 분리한 adenosine과 maltol을 다시 HPLC로 분석한 결과 adenosine과 maltol 모두 98%의 순도를 보였다.

Adenosine의 경우, 기존의 논문에서 홍삼을 열수 추출과 투석 그리고 open gel filtration 분리를 통한 adenosine fraction의 추출 효율이 0.03%라는 보고가 있었다(28). 본 실험과 수율은 비슷하지만 분리효율과 신속성 그리고 순도 면에서 본 실험결과의 우수함을 알 수 있었다. Maltol의 경우에는 열수추출에 의한 보고는 없었고 ethyl acetate 추출 후 HPLC 분석에서 3.82%를 나타냈다(29). 이는 본 실험결과 보다 약 4배의 수율을 보이지만, 본 실험에서는 adenosine과 같이 정제할 수 있다는 점, 열수추출이라 유기용매를 함유하지 않아 추후 산업적 이용에 편리하다는 점, 순도가 높다는 점에서 의의를 찾을 수 있다. 그리고 HPLC 분석 결과 기존의 adenosine과 maltol의 retention time이 각각 13, 33분인데 비해(30,31), 본 실험에서는 각각 7.5, 11.5분으로 나타나서, 기존의 방법보다 단시간에 분석 가능한 장점도 있다.

HPLC에서 정제한 maltol이 순수한 성분임을 재확인하기 위해 분광학적 분석과 질량을 확인하는 실험을 하였다. Fig. 3에서 보이는 바와 같이 정제 maltol의 UV-visible 흡광도는 274 nm에서 최대흡수를 보였고 (B) 표준시료 maltol의 흡광도와 (A) 전체적인 모양도 일치하였다. 질량을 확인하는 MS는 ESI positive mode에서 실행하였으며 Fig. 4의 (A)는 maltol 표준물질의 질량스펙트럼을 보여주고 있으며, maltol의 주요 peak로 분자량 127이 확인되었다. Fig. 4의 (B)는 홍삼 추출물로부터 회수한 maltol 분석의 MS로 표준물질에서 확인한 바와 같이 127의 분자량을 확인하였다. 이로써 홍삼 추출물로부터 분리한 maltol이 표준물질과 동일한 성분임을 확인하였다. 질량스펙트럼 중 분자량 111과 109는 각각 maltol에서 methyl group과 hydroxyl group이 절단됨으로써 생성된 이온으로 예측할 수 있다.

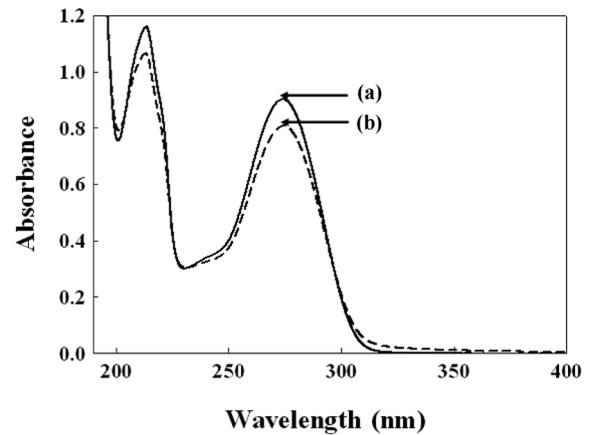


Fig. 3. UV-visible absorption spectra of authentic maltol (a: solid line) and purified maltol from red ginseng extracts (b: dotted line). Maltol was purified from Korean red ginseng extracts by HPLC and showed the same UV-visible spectrum to that of authentic maltol. The absorbance maximum of maltol exhibited UV absorbance at 214 nm and 274 nm.

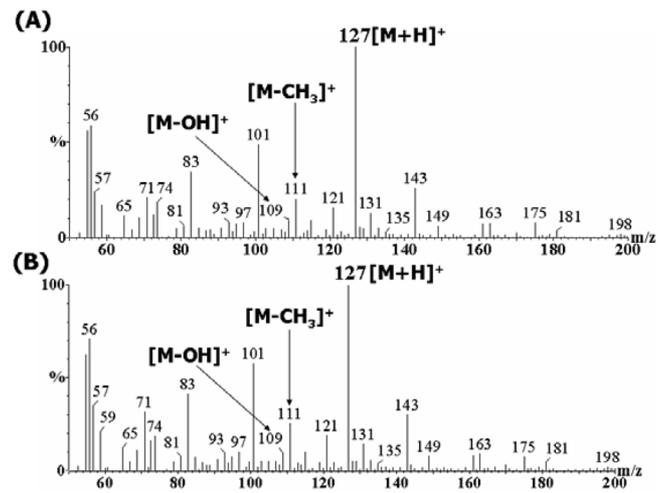


Fig. 4. MS spectra of authentic maltol (A) and purified maltol (B) from Korean red ginseng extracts. The major protonated molecule (m/z 127) and fragment ions corresponding to M-OH (m/z 109) and M-CH₃ (m/z 111) were all consistent with that of authentic maltol.

인진쑥, 형개, 회향으로부터 목적 성분의 검출

선정한 약용식물의 추출물로부터 목적 성분을 검출하기에 앞서 7가지의 표준물질(β -pinene, menthone, anethole, estragole, pulegone, fenchone, limonene)의 분석을 먼저 실행하여 분리되는 분석 조건을 검토하여 재료 및 방법에서 기술한 조건을 확립하였다. 인진쑥, 형개, 회향으로부터 methanol, ethanol, chloroform, benzene 등 총 7종류의 용매추출을 실행하여 얻어진 조추출물로 GC-MS 분석을 실행하여 수율을 Table 1에 나타내었다. 각 데이터는 3번의 실험에서 얻은 평균값 \pm 표준편차의 값으로 표시하였다.

Fig. 5에는 Table 1에서 실행한 실험 중 몇 가지 대표적인 GC-MS 자료를 보여주고 있다. Fig. 5의 A는 인진쑥 추출물의 GC-MS 분석결과를 나타내고 있는데 (a)는 methanol을 이용한 추출로써 목적으로 하는 성분 중 limonene과 anethole이 검출되었으며

Table 1. Solvent effects for the extraction of phytochemicals from four oriental herbs.

(Unit: ppm)

Solvent	Herb	Compound						
		β -Pinene	Limonene	Menthone	Anethole	Pulegone	Estragole	Fenchone
Ethyl ether	A	7.4 ± 0.36*	0.3 ± 0.02	6.1 ± 0.36	9.6 ± 0.38	0.5 ± 0.1	0.1 ± 0.006	N.D
	S	N.D	207 ± 8.25	215 ± 13.1	N.D	N.D	29.6 ± 1.98	N.D
	F	N.D	95.4 ± 6.65	6.1 ± 0.42	0.3 ± 0.02	0.9 ± 0.07	N.D	N.D
Methanol	A	N.D	23.9 ± 1.83	N.D	18 ± 0.17	N.D	N.D	N.D
	S	0.2 ± 0.04	34.6 ± 2.04	354 ± 20.18	N.D	118 ± 5.85	79.8 ± 7.25	N.D
	F	N.D	164 ± 8.24	N.D	N.D	N.D	2.4 ± 0.19	N.D
Ethanol	A	N.D	N.D	0.03 ± 0.004	2.9 ± 0.11	0.2 ± 0.02	N.D	N.D
	S	N.D	0.1 ± 0.02	228 ± 9.72	0.1 ± 0.01	110 ± 5.47	N.D	N.D
	F	N.D	26.8 ± 1.33	N.D	N.D	N.D	N.D	0.09 ± 0.05
1-Butanol	A	2.9 ± 0.14	N.D	N.D	3.2 ± 0.76	0.5 ± 0.03	0.2 ± 0.01	N.D
	S	N.D	38.5 ± 1.77	272 ± 21.2	N.D	133 ± 7.33	0.02 ± 0.005	N.D
	F	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Isopropanol	A	0.7 ± 0.1	N.D	N.D	4.6 ± 0.22	N.D	N.D	N.D
	S	N.D	88.8 ± 4.43	208 ± 8.32	0.9 ± 0.02	130 ± 5.21	28.9 ± 1.45	N.D
	F	N.D	0.09 ± 0.01	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Chloroform	A	0.3 ± 0.2	N.D	1.0 ± 0.1	N.D	N.D	N.D	N.D
	S	N.D	270 ± 13.7	0.14 ± 0.012	N.D	N.D	171 ± 6.82	N.D
	F	N.D	40.2 ± 2.01	0.40 ± 0.022	N.D	N.D	0.1 ± 0.05	N.D
	K	0.3 ± 0.07	0.4 ± 0.1	0.8 ± 0.02	N.D	N.D	N.D	N.D
Benzene	F	N.D	408 ± 15.3	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

Data were quantified by GC-MS analysis. All values shown at columns are the concentrations of total phytochemical compounds.

*Each value represented mean ± SD of triplicate determinations.

Abbreviations used: A, *Artemisia capillaries* Thunb; S, *Schizonepeta tenuifolia* Briq; F, *Foeniculum vulgare* Mill; K, Korean red ginseng
 ND: Not Detected

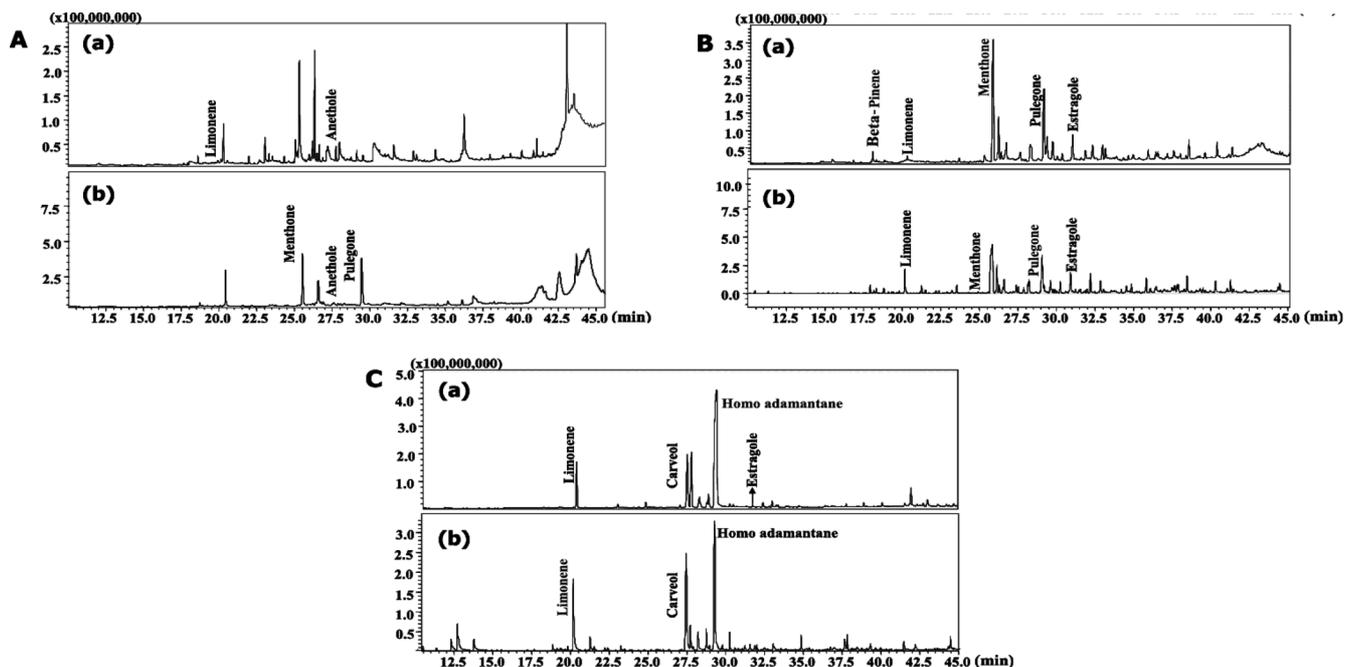


Fig. 5. GC-MS analysis phytochemicals from different extraction and different oriental herbs. A: *Artemisia capillaries* Thunb was extracted with methanol (a) and ethanol (b). B: The total ion chromatograms of *Schizonepeta tenuifolia* Briq was extracted with methanol (a) and chloroform (b). C: The total ion chromatograms of *Foeniculum vulgare* Mill was extracted with methanol (a) and benzene (b).

(b)는 ethanol 추출로써 menthone, anethole, pulegone이 검출되었다. 목적 성분의 검출이 이루어졌으나 모두 그 농도가 낮아 phytochemicals를 대량 분리하기에 적합하지 않은 것으로 사료되었다. 보고된 자료에서는 인진쑥을 물과 diethyl ether 혼합용매로 수증기 증류추출법으로 추출하여 GC-MS 분석결과, 미량의 β -pinene과 limonene만이 검출되었다(32).

Fig. 5의 B는 형개 추출물의 GC-MS 분석결과인데 (a)는 methanol에 의한 추출결과로서 β -pinene, limonene, menthone, pulegone, estragole 5가지 성분 모두 검출되었고, 이 중 menthone과 pulegone이 100 ppm 이상의 고농도로 검출되었으며 (b)는 chloroform을 용매로 사용한 추출물로 limonene, menthone, pulegone, estragole 성분 등이 검출되었다. Methanol 추출물과는 달리 menthone이 저농도로 존재하며 limonene, pulegone과 estragole의 농도가 어느 정도 증가되었음을 알 수 있었다. 즉 limonene, pulegone, estragole은 menthone에 비하여 비극성도가 높은 용매에 더 잘 용출이 되었음을 알 수 있다. 보고된 논문에서는 형개를 ethyl ether를 이용하여 추출한 후 GC-MS 분석한 결과, menthone의 환원형인 menthol이 0.234 mg/kg 검출되었음을 나타내고 있다(33). 본 실험결과에서는 menthone이 0.215±13.1 mg/kg 검출되었으므로 보고된 바와 수율 면에서는 유사하나 limonene 등 목적하는 다른 정유성분을 같이 검출할 수 있음을 보이며 추출방법에 따라 더 높은 수율을 얻을 수 있음도 처음으로 관찰되었다(Table 1).

Fig. 5의 C는 회향 추출물의 GC-MS 분석결과인데 (a)는 methanol에 의한 추출에서는 미량의 estragole과 100 ppm이상의 농도로의 limonene이 검출되었고 (b)는 benzene의 추출에 의한 분석에서는 limonene이 400 ppm 이상 검출되어 단일 성분 중 가장 고농도로 검출되었다(Table 1). 따라서 회향에서의 limonene 함량이 인진쑥과 형개보다 높을 것으로 예상할 수 있으며 limonene는 비극성도가 큰 성분이기 때문에 benzene과 같은 비극성도가 큰 용매에 더 잘 용출이 일어났음을 알 수 있었다. 그리고 MS finger printing법에 의해서 나타난 carveol과 homo adamantane은 (Fig. 5, C) 이번 연구에서 목적하는 기능성 성분은 아니지만, carveol은 carvone이나 perillyl alcohol과 같은 향기성분이며 목적물질 중 하나인 limonene으로부터 합성되며, 동일한 탄소골격구조를 가진다(34). Carveol은 limonene구조가 산화되어 발생하는 hydroxyl group가 부착된 구조로 밝혀져 있다. 그리고 석유로부터 adamantane을 분리, 정제한 연구에 따르면 homo adamantane은 화학 구조적으로 adamantane의 6각 ring구조에 1개의 메틸기가 더 추가된 7각 ring 구조를 가지는 것으로 알려져 있다(35). 위의 성분들은 약용식물 추출과정 중에 열에 의해서 발생된 화합물로 추정이 된다. 회향에서 목적물질의 추출방법에 따른 정량적 보고는 이번 연구가 처음이다.

그리고 Fig. 5에서 보여준 결과 외에 ethyl ether, isopropanol, 1-butanol과 같은 다른 종류의 용매에서 추출한 결과도 Table 1에 보여주고 있는데, 추출용매의 종류에 따라 목적 성분의 함량 차이가 뚜렷하게 나타났다. 이 중 인진쑥 추출물은 성분 함량이 가장 낮았고 회향은 limonene 성분 외에 다른 성분의 검출이 잘 이루어지지 않았다. 이에 비해 형개 추출물은 고농도의 기능성 성분들을 함유하고 있었다.

요 약

본 연구는 홍삼, 인진쑥, 형개, 회향으로부터 기능성 성분을 분리 및 검출하는 것을 목적으로 하였다. 홍삼의 열수 추출물에 함유된 maltol과 adenosine을 HPLC를 이용하여 분리할 수 있었다.

그 중 maltol은 그 분획을 얻어 UV-visible 흡광도의 측정과 MS를 이용한 분자량 측정을 통하여 maltol임을 재확인하였다. 그리고 인진쑥, 형개, 회향을 여러 가지 용매로 추출하여 그 추출물을 GC-MS로 분석한 결과, 인진쑥에는 limonene, menthone, anethole 등의 성분이 미량 검출되었고 회향에는 limonene 외의 성분은 거의 검출이 이루어지지 않았다. 본 실험 중 형개 추출물의 추출 효율이 가장 우수했는데 목적 성분 중 limonene, menthone, pulegone을 고농도로 얻을 수 있었다. 본 연구 결과로서 천연 약용 식물에서 기능 성분의 분리, 정제 시 각 성분에 대한 화학적 안전성을 확보할 수 있었으며, 한방 약초로부터의 기능성 화합물의 정량분석을 HPLC, GC-MS 등의 분석방법으로 수행하였다. 본 실험의 결과는 향후 목적하는 phytochemicals를 함유한 복합체 기능성 연구에 사용하고자 한다. 약용식물 유래의 유용화합물과 안정성이 확보된 고분자 형성물질에 의해 만들어진 복합체는 새로운 기능을 나타낼 수 있으며, 식품, 화장품, 의약품 등에 다양한 이용가능성이 예상된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부와 한국산업기술재단의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과이며, 2006-2008년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R01-2006-000-10232-0).

문 헌

1. Wen KC, Huang CY, Lu FL. Determination of baicalin and puerarin in traditional Chinese medicinal preparations by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 631: 241-250 (1993)
2. Wang H, Zou H, Ni J, Kong L, Gao S, Guo B. Fractionation and analysis of *Artemisia capillaris Thunb* by affinity chromatography with human serum albumin as stationary phase. *J. Chromatogr. A* 870: 501-510 (2000)
3. Samukawa KI, Yamashita H, Matsuda H, Kubo M. Simultaneous analysis of saponins in *Ginseng Radix* by high performance liquid chromatography. *Chem. Pharm. Bull.* 43: 137-141 (1995)
4. Shoji J. Studies on the constituents of ginseng. *Natural Med.* 53: 55-59 (1999)
5. Li XG. Studies on the transforming mechanism of amino acid components in ginseng in the course of ginseng processing. *Korean J. Ginseng Sci.* 16: 64-67 (1992)
6. Park MH, Han BH, Woo LK. Studies on the anti-oxidant components of Korean ginseng. *Korean Pharmacogn.* 11: 31-32 (1980)
7. Matsuura H. Studies of red ginseng: New glucosides and a note on the occurrence of maltol. *Chem. Pharm. Bull.* 32: 4674-4677 (1984)
8. Suh DY, Han YN, Han BH. Maltol, an antioxidant component of Korean red ginseng, shows little prooxidant activity. *Arch. Pharm. Res.* 79: 112-115 (1996)
9. Rodbell M. The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in membrane transduction. *Nature* 284: 17-22 (1980)
10. Abella ML. Evaluation of anti-wrinkle efficacy of adenosine-containing products using the FOITS technique. *Int. J. Cosmet. Sci.* 28: 447-451 (2006)
11. Hwang YK, Kim DC, Hwang WI. Inhibitory effect of *Artemisia princeps* Pampan. Extract on growth of cancer cell lines. *Korean Nutr. Soc.* 31: 799-808 (1998)
12. Kimura Y, Okuda H, Okuda, Hatano T, Agata T, Arichi A. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drug. VII. Effects of extracts of leaves of *Artemisia*, Species and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 2028-2034 (1985)
13. Lee GD, Han KH, Kim JS, Bae JO, Yoon, HS. Antioxidative

- effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). J. Korean Soc. Food Nutr. 21: 17-22 (1992)
14. Song YE, Ryu JS, Chung JR, Kwak JS, Kim DH, Kim BS, Rim CW. Study on the biological activity of *Artemisia iwayomogi* Kitamura. The Korean Soc. Med. Crop Sci. 9: 116-123 (2001)
 15. Twaij HA, Al-Badr AA. Hypoglycemic activity of *Artemisia herba* Alba. J. Ethnopharmacol. 24: 123-126 (1988)
 16. Ahn KS. The Essence of Oriental Medicine. Sonamoo Corp., Seoul, Korea. pp. 97-110 (1976)
 17. Park SH, Lim HY, Han JH. A study of medicinal herbs for functional food applications (I) nutritional composition and scopoletin analysis of *Artemisia capillaris*. J. East Asian Soc. Diet. Life 13: 552-560 (2003)
 18. Lee SJ. Coloured Medicinal plants and pharmacognosy. Gomoonsa Corp., Seoul, Korea. p. 545 (1975)
 19. Hwang YK, Kim DC, Hwang WI, Han YB. Inhibitory effect of *Artemisia princeps* Pampan. Extract on growth of cancer cell lines. Korean J. Nutr. 31: 799-808 (1998)
 20. Park IK, Kim LS, Choi IH, Lee YS, Shin SC. Fumigant activity of plant essential oils and components from *Schizonepeta tenuifolia* against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). J. Econ. Entomol. 99: 1717-1721 (2006)
 21. Behnam S, Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Tehrani AS. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. Commun. Agr. Appl. Biol. Sci. 71: 1321-1326 (2006)
 22. Loizzo MR, Saab AM, Tundis R, Statti GA, Menichini F, Lampronti I, Gambari R, Cinatl J, Doerr HW. Phytochemical analysis and *in vitro* antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species. Chem. Biodivers. 5: 461-470 (2008)
 23. Shin TY, Jeong HJ, Hun SM, Chae HJ, Kim HR, Baek SH, Kim HM. Effect of *Schizonepeta tenuifolia* extract on mast cell-mediated immediate-type hypersensitivity in rats. Immunopharm. Immunot. 21: 705-715 (1999)
 24. Tanina M, Shah A, Mohsin A, Ageel A, Qureshi S. Pharmacological and toxicological investigations on *Foeniculum vulgare* dried fruit extract in experimental animals. Phytother. Res. 10: 33-36 (1996)
 25. Ozcan MM, Chalchat JC, Arslan D, Ates A, Unver AJ. Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. *piperitum*) fruit oils obtained during different vegetation. Med. Food. 9:552-561 (2006)
 26. Soares PM, Lima RF, de Freitas Pires A, Souza EP, Assreuy AM, Criddle DN. Effects of anethole and structural analogues on the contractility of rat isolated aorta: Involvement of voltage-dependent Ca^{2+} -channels. Life Sci. 81: 1085-1093 (2007)
 27. de Siqueira RJ, Magalhães PJ, Leal-Cardoso JH, Duarte GP, Lahlou S. Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton zehntneri* leaves and its main constituents, anethole, and estragole, in normotensive conscious rats. Life Sci. 78: 2365-2372 (2006)
 28. Okuda H. Hints of Western Medicine from Chinese Medicine. Exp. Biol. Med. 228: 1250-1255 (2003)
 29. Hwang EY, Kong YH, Lee YC, Kim YC, Yoo KM, Jo YO, Choi SY. Comparison of phenolic compounds contents between white and red ginseng and their inhibitory effect on melanin biosynthesis. J. Ginseng Res. 30: 82-87 (2006)
 30. Kieblinga P, Scribab KE, Stüß F, Werner G, Knotha H, Hartmann M. Development and validation of a high-performance liquid chromatography assay and a capillary electrophoresis assay for the analysis of adenosine and the degradation product adenine in infusions. J. Pharmaceut. Biomed. 36: 535-539 (2004)
 31. Davidek T, Clety N, Devaud SP, Robert F, Blank I. Simultaneous quantitative analysis of maillard reaction precursors and products by high-performance anion exchange chromatography. J. Agr. Food Chem. 51: 7259-7265 (2003)
 32. Kim SK, Lee SC, Kang DK, Chung SH, Lee SP. Essential oil content and composition of aromatic constituents in some medicinal plant. Korean J. Plant. Res. 11: 272-282 (1998)
 33. Lin R, Tian J, Huang G, Li T, Li F. Analysis of menthol in three traditional chinese medicinal herbs and their compound formulation by GC-MS. Biomed. Chromatogr. 16: 229-233 (2002)
 34. Wluter A, Ann H, Shuyu R, Catherine J, Bernard W. Biotransformation of D-limonene to (1) *trans*-carveol by toluene-grown *Rhodococcus opacus* PWD4 cells. Appl. Environ. Microb. 2829-2832 (2001)
 35. Mair BJ, Shamaingar M, Krouskop NC, Rossini FD. Isolation of adamantane from petroleum. Anal. Chem. 31: 2082-2083 (1959)