

항련과 단삼의 독성평가를 위한 성분분석 및 안정성 시험

이미경 · 이준석 · 곽승준¹ · 김지명¹ · 강태석¹ · 이제현² · 우미희 · 최재수³ · 배기환⁴ · 민병선*
대구가톨릭대학교 약학대학, ¹국립독성과학원 독성연구부, ²동국대학교 한의과대학,
³부경대학교 식품생명공학부, ⁴충남대학교 약학대학

Analysis and Stability test of the Extract of *Coptidis Rhizoma* and *Salviae Miltiorrhizae Radix* for Toxicity Study

Mi Kyoung Lee, Jun Seok Lee, Seung Jun Kwack¹, Ji Myoung Kim¹, Tae Suk Kang¹, Je Hyun Lee²,
Mi Hee Woo, Jae Sue Choi³, KiHwan Bae⁴ and Byung Sun Min*

College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea

¹Department of Toxicological Research, National Institute of Toxicological Research, Seoul 122-704, Korea

²College of Oriental Medicine, Dongguk University, Gyeongju 780-714, Korea

³Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

⁴College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract – A simple and reliable reverse phase HPLC method of *Coptidis Rhizoma* and *Salviae Miltiorrhizae Radix* were developed to determine pharmacologically active marker compounds. The water-extract of two natural medicines were evaluated by the HPLC methods. The stability test for two extract were examined for five months. However, no significant change in the content of the marker compounds of each extract observed during the time of investigation.

Key words – *Coptidis Rhizoma*, *Salviae Miltiorrhizae Radix*, Water-extract, Stability test, HPLC

최근 세계적으로 식물자원을 이용한 고부가가치 식, 의약품의 개발이 활발하게 시도되고 있으며 정부도 천연물신약 연구개발 촉진법을 통하여 이를 지원하고 있다. 천연물을 이용한 다양한 외국의 식, 의약품이 이미 건강 보조식품으로 유통되고 있으며 독일, 프랑스 같은 나라에서는 천연물 추출물 자체 또는 분획물 (은행잎, 겨우살이 등)을 이용하여 식, 의약품 개발로 거대한 시장을 창출하고 있다. 우리나라는 전통적으로 사용하는 각종 한약재 외에도 천연물의약품 및 건강기능성식품의 형태로 많은 생약이 사용되고 있다. 규격을 설정하여 관리하는 생약은 대한약전에 130종과 생약규격집에 385종으로 총 515종의 한약재가 수재되고 관리되고 있으나 이들의 인체에 대한 안전성 연구는 매우 미흡한 실정이다.¹⁾ 특히 마두령 (*Aristolochiae Fructus*)은 쥐방울과 (*Aristolochiaceae*)의 쥐방울덩굴 (*Aristolochia contorta*) 과실로 뱀독의 해독제나 진통, 소염제 등으로 사용되었던 생약재이다. 마두령의 주성분은 aristolochic acid으로 알려

져 있으며 최근 여러 동물 실험에서 발암성, 유전독성 및 신장독성이 확인되었고, 사람에게서도 aristolochic acid가 다량 함유된 다이어트 제제를 장기 복용한 경우 신장독성과 발암성이 보고되면서 생약재의 독성에 대한 관심이 높아지고 있어 생약에 대한 과학적이고 체계적인 안전성 평가자료 확보가 절실히 필요하다.²⁻⁵⁾

국립독성과학원에서는 국가의 독성물질 관리사업의 일환으로 생약의 일반독성시험 및 유전독성시험을 진행 중에 있다. 독성시험 결과와 이에 대한 과학적 근거 확보를 위해 시험물질에 대한 신뢰성 및 재현성 있는 분석결과가 요구된다. 생약은 산지, 채집시기 등에 따라 원료생약의 유효성분 함량 및 품질 차이가 있고, 건조상태, 가공법에 따라 지표 성분 등의 차이가 있어 원료생약에 대한 기준규격시험이 필요하며 규격화된 시료를 독성시험에 이용하여야 한다. 또한 생약은 건강식품, 의약품 보조제 등의 질병 예방을 위해 장기적으로 복용하는 경우, 안정성 확인 시험이 필수이며 안정성이 확보된 시료를 사용하여 독성 시험할 경우 신뢰할 수 있는 독성자료를 얻을 수 있다.

*교신저자 (E-mail): bsmin@cu.ac.kr
(Tel): 053-850-3613

황련 (Coptidis Rhizoma)의 berberine은 광범위한 항미생물 작용과⁶⁾ 사람의 장내세균의 성장을 억제하는⁷⁾ 활성이 있어 세균성설사에 대한 지사약 및 소염성 고미건위약으로 세균성설사, 복통, 폐결핵, 구토, 비출혈, 하혈, 소갈, 눈출혈, 구내염 등에 응용한다. 황련의 isoquinoline계 alkaloid는 암세포에 세포독성,⁸⁾ SNU-688 gastric cancer cell에 apoptosis 작용,⁹⁾ anti-feeding 활성,¹⁰⁾ aldose reductase 억제활성,¹¹⁾ 해독작용¹²⁾ 등이 보고되어 있고, lignan계 화합물은 항염증작용이¹³⁾ 보고되어져 있다. 단삼 (Salviae Miltiorrhizae Radix)은 활혈, 소중, 진통약으로 월경부조, 복통, 경폐, 산후의 구토와 복통, 류마티스 등에 사용하며 부인병에 사용되는 생약으로 주요성분은 붉은색을 띠는 diterpene계 화합물이다. 단삼의 생리활성 연구로는 동맥경화 개선작용,¹⁴⁾ 고지방 개선작용,¹⁵⁾ IL-2과 IFN-gamma gene 생성억제¹⁶⁾ 및 prostaglandin 생성억제,¹⁷⁾ 뇌세포보호 작용,¹⁸⁾ 항산화작용,¹⁹⁾ 간세포보호 작용이²⁰⁾ 보고 되어있다. 단삼의 항암작용에 관한 연구로는 dihydrotanshinone I 화합물이 anti-angiogenic 활성,²¹⁾ tanshinone I 이 human breast cancer 세포인 MDA-MB-231의 부착을 조절하여 세포성장 억제작용과²²⁾ estrogen receptor-positive (MCF-1), lung carcinoma 세포 세포독성과²³⁾ estrogen receptor-negative (MDA-MB-231) breast cancer 세포에 apoptosis 유도작용이 있으며,²⁴⁾ 단삼의 alkaloid계 성분은 HeLa, HepG2, OVCAR-3 등의 암세포에 세포독성,²⁵⁾ diterpene계 화합물이 hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) 축적 억제작용이²⁶⁾ 보고되어 있다.

본 연구는 황련과 단삼 2종 생약을 대상으로 HPLC-UV를 이용하여 지표성분의 분석법을 확립하였으며, 확립된 분석법을 이용해 생약의 표준화된 추출물을 확보하고 실온과 냉장의 보관조건에서 지표성분의 변화를 확인함으로써 독성시험에 사용하는 생약 추출물의 안정성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 연구에 사용한 2종의 생약, 황련과 단삼은 유통되는 생약을 기원별, 산지별로 구입하여 기원, 성장, 색상, 냄새 등을 기준으로 생약감별 자문위원회 (한국생명공학연구원, 이형규 박사; 충남대학교, 김영호 교수; 한국화학연구원, 유시용 박사; 충남대학교, 배기환 교수; 대구가톨릭대학교, 민병선 교수)의 감별을 거쳐 선별하였고 선정된 시료는 대구가톨릭대학교 약학대학 표본실에 보관되어 있다 (황련, CUD-3171-1; 단삼, CUD-2617-1). 황련 (Coptidis Rhizoma)과 단삼 (Salviae Miltiorrhizae Radix) 모두 중국산을 사용하였다. 각 생약은 식품의약품안전청 고시 2003-17, 안전성 유효성심사규정에 준한 표준단계 제조법에 따라 열수추출하고 이를 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다.²⁷⁾

시약 및 기기 – berberine, coptisine, palmatine 및 epiberberine은 황련 (Coptidis Rhizoma)에서 분리하여 사용하였고, tanshinone I, tanshinone II, cryptotanshinone 및 dihydrotanshinone은 단삼 (Salviae Miltiorrhizae Radix)에서 분리한 화합물을 안동대학교 손건호 교수님에게 제공받아 사용하였다. HPLC system은 Gilson사의 306 pump, 811C dynamic mixer, UV/VIS-156 detector, 231 XL sample injector 및 GILSON UniPoint data를 사용하였으며 column은 Agilent Technologies사의 Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm)를 사용하였다. HPLC 용매는 Burdick & Jackson사의 Methanol 및 acetonitrile을 사용하였고, H₂O는 Milli-Q로 처리한 물을 사용하였다.

황련 지표물질 분리 – 황련 (Coptidis Rhizoma) 10 kg을 MeOH로 3시간 동안 3회 반복 환류냉각 열탕 추출하고 여과한 후 감압 농축하여 2.2 kg의 MeOH 엑스를 얻었다. MeOH 엑스를 10% MeOH로 현탁하고 CH₂Cl₂, BuOH 및 H₂O 순으로 계통 분획하여 각각 230 g, 1100 g, 840 g의 분획물을 얻었다. BuOH 분획물을 silica gel, MCI-CHP20 및 Sephadex LH-20 column chromatography와 CH₂Cl₂-MeOH의 용매를 사용하여 berberine, coptisine, palmatine을 분리하였다. 물 분획물을 MCI-CHP20 및 Sephadex LH-20 column chromatography와 CH₂Cl₂-MeOH의 용매를 사용하여 epiberberine을 분리하였다.²⁸⁾

Coptisine – yellow amorphous powder; UV λ_{max} (MeOH): 226, 239, 264, 356; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): 9.71 (1H, s, H-8), 8.71 (1H, s, H-13), 7.87 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-11), 7.83 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-12), 7.63 (1H, s, H-1), 6.84 (1H, s, H-4), 6.45 (2H, s, OCH₂O), 6.09 (2H, s, OCH₂O), 4.89 (2H, m, H-6), 3.23 (2H, m, H-5); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): 151.0 (C-10), 148.8 (C-3), 148.1 (C-2), 144.6 (C-8), 144.1 (C-9), 137.8 (C-13a), 133.2 (C-12a), 130.6 (C-4a), 121.9 (C-12), 121.6 (C-13b), 120.7 (C-11), 112.5 (C-8a), 108.2 (C-4), 105.3 (C-1), 105.0 (OCH₂O), 102.5 (OCH₂O), 56.0 (C-6), 27.0 (C-5).

Palmatine – yellow amorphous powder; mp, 208°C; UV λ_{max} (EtOH): 228, 240, 268, 276, 343, 350, 433; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): 9.78 (1H, s, H-8), 8.88 (1H, s, H-13), 8.10 (1H, d, *J* = 8.0Hz, H-11), 8.00 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-12), 7.63 (1H, s, H-1), 7.03 (1H, s, H-4), 4.87 (2H, m, H-6), 4.19 (3H, s, 9-OCH₃), 4.08 (3H, s, 10-OCH₃), 3.97 (3H, s, 2-OCH₃), 3.92 (3H, s, 3-OCH₃), 3.52 (2H, m, H-5); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): 152.6 (C-3), 150.7 (C-10), 149.7 (C-2), 145.2 (C-8), 144.5 (C-9), 138.6 (C-13a), 134.0 (C-12a), 128.9 (C-4a), 126.8 (C-12), 123.3 (C-11), 122.1 (C-13b), 120.1 (C-13), 119.3 (C-

8a), 111.0 (C-4), 108.7 (C-1), 61.3 (C-9, OCH₃), 56.4 (C-10, OCH₃), 56.1 (C-2, OCH₃), 55.8 (C-3, OCH₃), 55.4 (C-6), 26.6 (C-5); LC-ESI-MS/MS *m/z*: 352 [M]⁺.

Berberine – yellow amorphous powder; mp, 158-160°C; UV λ_{\max} (EtOH): 230, 266, 352, 432; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): 9.75 (1H, s, H-8), 8.69 (1H, s, H-13), 8.10 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-11), 7.98 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-12), 7.64 (1H, s, H-1), 6.94 (1H, s, H-4), 6.09 (2H, s, OCH₂O), 4.91 (2H, t, *J* = 6.4 Hz, H-6), 4.18 (3H, s, 9-OCH₃), 4.09 (3H, s, 10-OCH₃), 3.24 (2H, t, *J* = 6.4 Hz, H-5); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): 151.0 (C-10), 150.8 (C-3), 148.7 (C-2), 144.6 (C-9), 145.2 (C-8), 138.5 (C-13a), 134.0 (C-12a), 130.7 (C-4a), 126.8 (C-11), 123.3 (C-12), 122.1 (C-8a), 120.7 (C-13b), 120.3 (C-13), 108.2 (C-4), 105.3 (C-1), 102.5 (OCH₂O), 61.3 (C-9, OCH₃), 56.4 (C-10, OCH₃), 56.0 (C-6), 27.0 (C-5).

Epiberberine – yellow amorphous powder; mp, 260°C; UV λ_{\max} (EtOH): 227, 245, 268, 361; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): 9.70 (1H, s, H-8), 8.81 (1H, s, H-13), 7.88 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-11), 7.83 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-12), 7.63 (1H, s, H-1), 7.03 (1H, s, H-4), 6.45 (2H, s, OCH₂O), 4.88 (2H, m, H-6), 3.97 (3H, s, 2-OCH₃), 3.92 (3H, s, 3-OCH₃), 3.26 (2H, m, H-5); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD): 152.6 (C-3), 149.7 (C-2), 147.9 (C-10), 144.5 (C-9), 144.1 (C-8), 137.9 (C-13a), 133.3 (C-12a), 128.7 (C-4a), 121.8 (C-12), 121.1 (C-11), 121.0 (C-13), 119.3 (C-13b), 112.5 (C-8a), 111.0 (C-4), 108.5 (C-1), 104.9 (OCH₂O), 56.2 (C-6), 55.8 (C-2, OCH₃), 55.5 (C-3, OCH₃), 26.5 (C-5).

표준액 및 분석용 검액 조제 – 생약 추출물 100 mg에 70% MeOH 10 mL를 가하여 HPLC분석용 시료로 사용하였다. Coptisine, palmatine, berberine, epiberberine, tanshinone I, tanshinone II, cryptotanshinone 및 dihydrodanzhinone 각각 70% MeOH로 1 mg/mL 농도로 녹여 표준액으로 사용하였다. 분석용 표준액과 검액은 membrane filter로 여과한 후 사용하였다.

지표물질 정량 – 문헌 등의 자료를 토대로 지표물질을 선정하였고, Table I과 같은 조건으로 분석하였다. 각각의 지표성분은 검량선을 작성하여 생약 추출물의 함량을 평가하였다.

추출물 안정성 실험 – 2종의 생약의 열수 추출물을 동결 건조한 분말의 안정성 실험을 위해 시료를 실온과 냉장에 5개월 보관하면서 0, 1, 2, 3, 5 개월에 각각의 시료를 설정된 HPLC 조건에서 분석하였다. 각각의 시료는 일정 양씩 3개의 EP-tube에 취하고 60분간 sonication 후 membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

황련 지표물질 구조동정 – 황련의 지표성분 분리를 위해 10 kg을 MeOH로 추출하고 추출액을 10% MeOH로 현탁한 후 CH₂Cl₂, BuOH 순으로 용매 분획하였다. BuOH-soluble fraction과 물층을 silica gel, MCI-CHP20 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복 실시하고 일부 분획물은 MeOH로 재결정하여 4종의 화합물을 분리하였다. 4종의 화합물은 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR spectroscopic data로 coptisine, palmatine, berberine, epiberberine임을 확인할 수 있었으며 이들의 NMR data는 문헌에 보고된 data와 일치하였다.²⁹⁻³⁰⁾

생약 추출물 지표성분 정량 – 일반적으로 생약의 분석에서 지표성분은 그 약리활성을 대표하거나 각 생약의 특이한 활성을 갖는 성분을 선정하는 것이 원칙이나, 활성성분이나 특이성분을 설정하기 어려운 경우에는 주성분을 지표성분으로 한다.¹⁾ 본 연구에서는 2종의 생약에 대표적인 생리활성을 보이며 주성분인 황련 (Coptidis Rhizoma)에서는 coptisine, palmatine, berberine 및 epiberberine을 지표성분으로, 단삼 (Salviae Miltiorrhizae Radix)은 tanshinone I, tanshinone II, cryptotanshinone 및 dihydrodanzhinone을 지표성분으로 각각 설정하였다 (Fig. 1). 각각의 지표성분 HPLC 분석은 Table I의 조건으로 4가지 성분이 resolution 2 이상으로 완전히 분리되어 성분의 농도 결정에 방해받지 않았다. 상기의 분석 조건으로 각 지표성분의 검량선을 작성한 결과 r²이 0.995 이상으로 높은 직선성이 확인되었다 (Table II).

Table I. HPLC conditions for Coptidis Rhizoma and Salviae Miltiorrhizae Radix

Coptidis Rhizoma	Marker compounds: coptisine, palmatine, berberine, epiberberine Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) Mobile phase: 10 mM hexanesulfonic acid-Na : acetonitrile = 85:15 \rightarrow 65:35 (20 min) \rightarrow 20:80 (40 min) Detector: 254 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C
Salviae Miltiorrhizae Radix	Marker compounds: tanshinone I, tanshinone II, cryptotanshinone, dihydrodanzhinone Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) Mobile phase: 0.1% formic acid : acetonitrile = 60:40 \rightarrow 20:80 (60 min) Detector: 280 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C

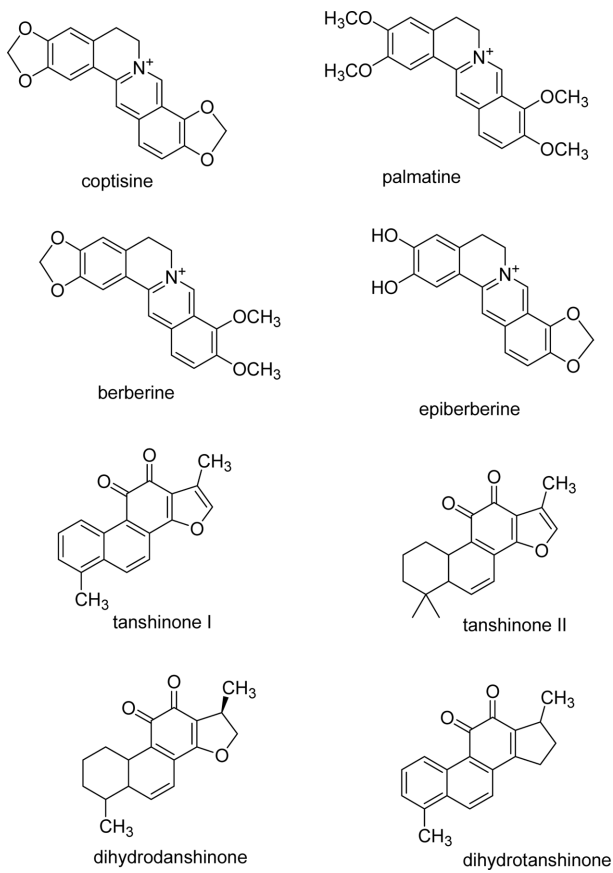


Fig. 1. Chemical structures of maker compounds.

열수추출물 안정성시험 - 황련과 단삼의 생약추출물에 대한 안정성 자료를 얻고자, 각각의 추출물을 실온과 냉장에 보관하고 5개월간 일정 기간 간격 (1, 2, 3, 5 개월)으로 육안 관찰하고 유효성분 함량평가를 수행하였다. 육안 관찰에서는 실온과 냉장 장기보관시험 조건에서 색 등의 변화가 관찰되지 않았고, 5개월 장기보관에 따른 고체 상태로 굳어지는 현상도 없었다.

지표성분의 함량은 Fig. 2와 Table III과 같으며 황련의 추출물 HPLC 분석 결과 epiberberine, coptisine, palmatine 및 berberine이 분석조건에서 검출되었고, 4가지 성분 중

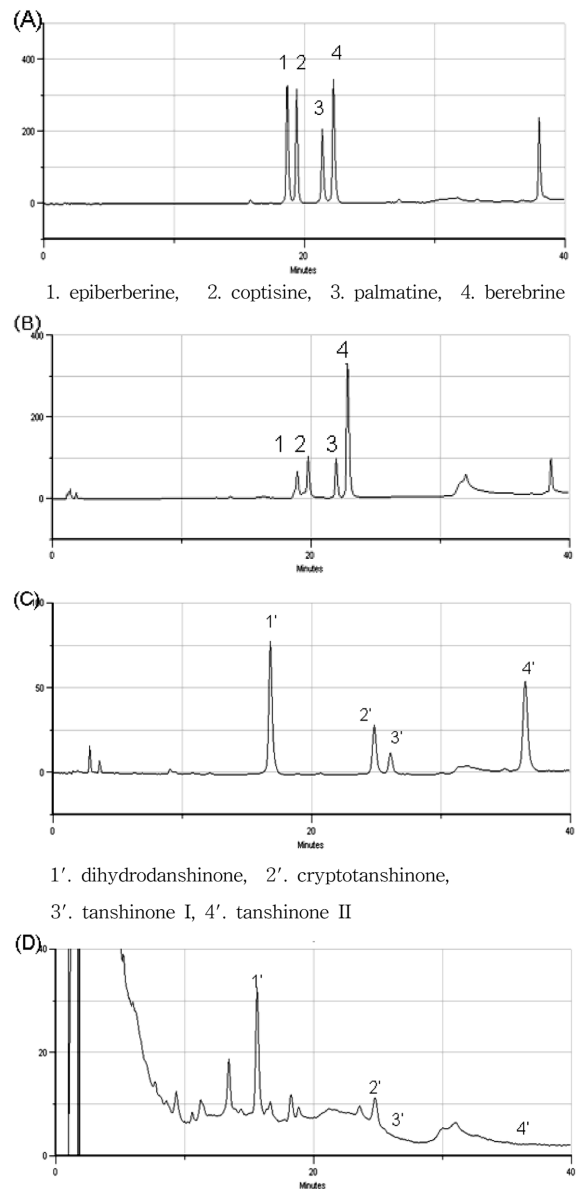


Fig. 2. HPLC chromatogram.

(A) standard compounds of Coptidis Rhizoma, (B) extract of Coptidis Rhizoma, (C) standard compounds of Salviae Miltiorrhizae Radix, (D) extract of Salviae Miltiorrhizae Radix

Table II. Calibration data of HPLC-UV

	Maker compound	Regression equation ^{a)}	Correlation coefficients
Coptidis Rhizoma	coptisine	$y = -0.0236x + 0.02938$	0.9994
	palmatine	$y = -0.001x + 0.0244$	0.9992
	berberine	$y = 0.0151x + 0.02039$	0.9987
	epiberberine	$y = 0.0015x + 0.02457$	0.9994
Salviae Miltiorrhizae Radix	tanshinone I	$y = 0.1529x - 0.0424$	0.9999
	tanshinone II	$y = 0.1510x - 0.0154$	0.9999
	cryptotanshinone	$y = 0.0881x - 0.0031$	1.0000
	dihydrodanshinone	$y = 0.1522x - 0.0431$	0.9999

^{a)}y = peak area, x = amount (μg)

Table III. Contents of marker compounds during the period of stability test (n = 3)

	Room temperature (mg/g)					Refrigerator (mg/g)				
	0 month	1 month	2 month	3 month	5 month	0 month	1 month	2 month	3 month	5 month
Coptisine	12.38±0.59	11.57±0.21	12.47±0.25	12.16±0.54	11.87±0.46	12.38±0.59	11.69±0.65	12.11±0.76	11.88±0.34	11.73±0.54
Palmatine	9.90±0.13	9.05±0.14	9.98±0.49	9.28±0.17	9.76±0.34	9.90±0.13	9.11±0.19	9.62±0.81	9.43±0.53	9.44±0.50
Berberine	43.43±0.61	44.54±0.57	44.01±0.25	44.21±0.75	44.09±1.20	43.43±0.61	44.28±0.11	42.59±2.42	44.25±0.31	43.56±1.55
Epiberberine	7.02±0.48	7.14±0.24	7.20±0.14	6.98±0.16	6.78±0.28	7.02±0.48	7.29±0.27	7.08±0.61	7.19±0.52	7.30±0.22
Tanshinone I	1.17±0.00	1.04±0.01	1.14±0.03	1.16±0.05	1.15±0.05	1.17±0.00	1.16±0.02	1.09±0.05	1.12±0.05	1.10±0.08
Tanshinone II	1.50±0.01	1.44±0.06	1.52±0.04	1.53±0.02	1.43±0.02	1.50±0.01	1.53±0.08	1.45±0.03	1.44±0.20	1.49±0.17
Cryptotanshinone	1.07±0.01	1.00±0.02	1.05±0.01	1.05±0.01	0.99±0.01	1.07±0.01	1.00±0.00	0.97±0.04	0.99±0.03	0.98±0.05
Dihydrodanzhinone	0.34±0.03	0.33±0.00	0.32±0.00	0.30±0.00	0.31±0.02	0.34±0.03	0.35±0.02	0.29±0.02	0.29±0.05	0.30±0.04

berberine이 주요성분으로 확인 되었다. 대한약전에서 황련의 berberine의 함량은 4.2% 이상으로 규정하고 있어 규격에 적합한 시료이다.³¹⁾ 그러나 황련의 분석에서 주로 4가지 성분이 검출되었고 다른 성분은 상기의 HPLC 분석조건에서 검출되지 않아 4가지 성분이 황련의 주요 alkaloid임을 확인하였다. 5개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료도 추출 시 분석한 시료의 함량에는 차이가 없어 황련의 물추출물은 안정함을 확인할 수 있었다. 단삼의 추출물 HPLC 분석 결과 dihydrotanshinone, cryptotanshinone, tanshinone I 및 tanshinone II가 상기의 분석조건에서 검출되었고, 4가지 성분 중 dihydrotanshinone이 주요성분으로 확인 되었으며 tanshinone II는 시험에 사용한 단삼에서는 검출되지 않았다. 5개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료도 추출 시 분석한 시료의 chromatogram과 차이가 없으며 성분 함량도 일정하여 단삼의 물 추출물은 안정성이 확보되었다.

결 론

생약재의 독성실험을 위한 추출물은 식약청고시 2003-17, 표준탕제 제조법에 따라 추출 제조하였다. 추출물의 함량분석을 위해 황련의 지표성분은 epiberberine, coptisine, palmatine 및 berberine으로, 단삼의 지표성분은 dihydrotanshinone, cryptotanshinone, tanshinone I 및 tanshinone II로 선정하였다. 각각의 성분은 HPLC-UV detector와 RP C-18 column으로 분석이 가능하였다. 추출생약재의 장기보존에 따른 안정성 시험을 위해 시료는 실온과 냉장고에 보관하였고, 실험기간은 각각 5개월간 HPLC로 분석하여 각각의 peak의 pattern과 함량으로 2종 생약의 안정성을 확인하였다. 이러한 생약 시료의 표준화와 안정성 결과는 독성시험 결과의 신뢰성을 확보하고 생약의 유통과정의 효율적 품질관리 개선에도 활용이 가능하다고 기대된다.

사 사

본 연구는 식품의약품안전청 용역연구사업 “KNTP독성시

험을위한원료물질확보및분석연구(II)” (08152독관리414)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Kim, S. H., Choi, E. J., Kim, D. H., Lee, K. Y., Lee, M., Baek, S. W., Kwak, S. J., Kang, T. S., Kim, Y. C. and Sung, S. H. (2008) Stability test of the extracts of Cimicifugae Rhizoma, Achyranthis Radix, Artemisia Capillaris Herba, Moutan Cortex Radicis and Arecae Semen for toxicity study. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 241-245.
- Park, C. H. and Kwack, S. J. (2009) The effects of aristolochic acid on reproductive function in female rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 89-98.
- Frei, H., Wurgler, F. E., Juon, H., Hall, C. B. and Graf, U. (1985) Aristolochic acid is mutagenic and recombinogenic in *Drosophila* genotoxicity tests. *Arch. Toxicol.* **56**: 158-166.
- Mengs, U. (1987) Acute toxicity of aristolochic acid in rodents. *Arch. Toxicol.* **59**: 328-331.
- Arlt, V. M., Annie, P. L., Cosyns, J. P. and Schmeiser, H. H. (2001) Analyses of DNA adducts formed by ochratoxin A and aristolochic acid in patients with Chinese herbs nephropathy. *Mutat. Res.* **494**: 143-150.
- Park, H., Kim, M. S., Jeon, B. H., Kim, T. K., Kim, Y. M., Ahn, J., Kwon, D. Y., Takaya, Y., Wataya, Y. and Kim, H. S. (2003) Antimalarial activity of herbal extracts used in traditional medicine in Korea. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 1623-1624.
- Chae, S. H., Jeong, I. H., Choi, D. H., Oh, J. W. and Ahn, Y. J. (1999) Growth-inhibiting effects of *Coptis japonica* root-derived isoquinoline alkaloids on human intestinal bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, **47**: 934-938.
- Min, Y. D., Yang, M. C., Lee, K. H., Kim, K. R., Choi, S. U. and Lee, K. R. (2006) Protoberberine alkaloids and their reversal activity of P-gp expressed multidrug resistance (MDR) from the rhizome of *Coptis japonica* Makino. *Arch. Pharm. Res.* **29**: 757-761.
- Park, H. J., Kim, Y. J., Leem, K., Park, S. J., Seo, J. C., Kim, H. K. and Chung, J. H. (2005) *Coptis japonica* root extract

- induces apoptosis through caspase-3 activation in SNU-668 human gastric cancer cells. *Phytother. Res.* **19**: 189-192.
10. Park, I. K., Lee, H. S., Lee, S. G., Park, J. D. and Ahn, Y. J. (2000) Antifeeding activity of isolquinoline alkaloids identified in *Coptis japonica* roots against *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) and *Agelastica coerulea* (Coleoptera: Galerucinae). *J. Econ. Entomol.* **93**: 331-335.
 11. Takanashi, K., Shitan, N., Sugiyama, A., Kamimoto, Y., Hamamoto, M., Iwaki, T., Takegawa, K. and Yazaki, K. (2008) Galactinol synthase gene of *Coptis japonica* is involved in berberine tolerance. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**: 398-405.
 12. Fang, Z. Y., Lin, R., Yuan, B. X., Liu, Y. and Zhang, H. (2007) Tanshinone IIA inhibits atherosclerotic plaque formation by down-regulating MMP-2 and MMP-9 expression in rabbits fed a high-fat diet. *Life Sci.*, **81**: 1339-1345.
 13. Cho, J. Y., Kim, A. R. and Park, M. H. (2001) Lignans from the rhizomes of *Coptis japonica* differentially act as anti-inflammatory principles. *Planta Med.* **67**: 312-316 .
 14. Fang, Z. Y., Lin, R., Yuan, B. X., Yang G. D Liu, Y. and Zhang, H. (2008) Tanshinone IIA downregulates the CD40 expression and decreases MMP-2 activity on atherosclerosis induced by high fatty diet in rabbit. *J Ethnopharmacol.* **115**: 217-222.
 15. Ji, W. and Gong, B. Q. (2008) Hypolipidemic activity and mechanism of purified herbal extract of *Salvia miltiorrhiza* in hyperlipidemic rats. *J Ethnopharmacol*, **119**: 291-298.
 16. Wu, M. H., Tsai, W. J., Don, M. J., Chen, I. S. and Kuo, Y. C. (2007) Tanshinolactone A from *Salvia miltiorrhiza* modulates interleukin-2 and interferon-gamma gene expression. *J Ethnopharmacol.* **113**: 210-217.
 17. Jeon, S. J., Son, K. H., Kim, Y. S., Choi, Y. H. and Kim, H. P. (2008) Inhibition of prostaglandin and nitric oxide production in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells by tanshinones from the roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Arch. Pharm. Res.* **31**: 758-763.
 18. Zhang, F., Zheng, W., Pi, R., Mei, Z., Bao, Y., Gao, J., Tang, W., Chen, S. and Liu, P. (2009) Cryptotanshinone protects primary rat cortical neurons from glutamate-induced neurotoxicity via the activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway. *Exp. Brain Res.* **193**: 109-118.
 19. Kim, JY., Kim, HS., Kang, HS., Choi, JS., Yokozawa, T. and Chung, H. Y. (2008) Antioxidant potential of dimethyl lithospermate isolated from *Salvia miltiorrhiza* (red sage) against peroxynitrite. *J. Med. Food*, **11**: 21-28.
 20. Yin, H. Q., Choi, Y. J., Kim, Y. C., Sohn, D. H., Ryu, S. Y. and Lee, B. H. (2009) *Salvia miltiorrhiza* Bunge and its active component cryptotanshinone protects primary cultured rat hepatocytes from acute ethanol-induced cytotoxicity and fatty infiltration. *Food Chem. Toxicol.* **47**: 98-103.
 21. Bian, W., Chen, F., Bai, L., Zhang, P. and Qin, W. (2008) Dihydro-tanshinone I inhibits angiogenesis both in vitro and in vivo. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* (Shanghai), **40**: 1-6.
 22. Nizamutdinova, I. T., Lee, G. W., Lee, J. S., Cho, M. K., Son, K. H., Jeon, S. J., Kang, S. S., Kim, Y. S., Lee, J. H., Seo, H. G., Chang, K. C. and Kim, H. J. (2008) Tanshinone I suppresses growth and invasion of human breast cancer cells, MDA-MB-231, through regulation of adhesion molecules. *Carcinogenesis* **29**: 1885-1892.
 23. Lee, C. Y., Sher, H. F., Chen, H. W., Liu, C. C., Chen, C. H., Lin, C. S., Yang, P. C., Tsay, H. S. and Chen, J. J. (2008) Anticancer effects of tanshinone I in human non-small cell lung cancer. *Mol. Cancer Ther.* **7**: 3527-3538.
 24. Nizamutdinova, I. T., Lee, G. W., Son, K. H., Jeon, S. J., Kang, S. S., Kim, Y. S., Lee, J. H., Seo H. G, Chang K. C. and Kim H. J. (2008) Tanshinone I effectively induces apoptosis in estrogen receptor-positive (MCF-7) and estrogen receptor-negative (MDA-MB-231) breast cancer cells. *Int. J. Oncol.* **33**: 485-491.
 25. Don, M. J., Shen, C. C., Lin, Y. L., Syu, W. J., Ding, Y. H., and Sun, C. M. (2005) Nitrogen-containing compounds from *Salvia miltiorrhiza*. *J. Nat. Prod.* **68**: 1066-1070.
 26. Dat, N. T., Jin, X., Lee, J. H., Lee, D., Hong, Y. S., Lee, K., Kim, Y. H. and Lee, J. J. (2007) Abietane diterpenes from *Salvia miltiorrhiza* inhibit the activation of hypoxia-inducible factor-1. *J. Nat. Prod.* **70**: 1093-1097.
 27. 식의약청고시 2003-17, 안전성유효성심사규정.
 28. Jung, H. A., Yoon, N. Y., Bae, H. J., Min, B. S. and Choi J. S. (2008) Inhibitory activities of the alkaloids from *Coptidis Rhizoma* against aldose reductase. *Arch. Pharm. Res.* **31**: 1405-1412.
 29. Grycova, L., Dostal, J. and Marek, R. (2007) Quaternary protoberberine alkaloids. *Phytochemistry* **68**: 150-175.
 30. Lee, H. Y. and Kim, C. W. (1997) Studies on the constituents of *Berberis amurensis* Ruprecht. *Kor. J. Pharmacogn.* **28**: 257-263.
 31. 편집부: 대한약전 (제8개정), 약업신문 (2002).

(2009년 7월 30일 접수)