

구릿대 뿌리의 부위별 성분 비교

윤의중 · 유재국¹ · 진전성 · 이익수 · 나민균² · 민병선³ · 정현주⁴ · 서은경⁵ · 배기환*
충남대학교 약학대학, ¹취한국신약, ²영남대학교 약학대학, ³대구가톨릭대학교 약학대학,
⁴원광대학교 약학대학 한약학과 및 원광한약연구소, ⁵이화여자대학교 약학대학

The Comparison of Constituents Distributed in the Root of *Angelica dahurica*

Ui Joung Youn, Jae Kuk Yoo¹, Quan Cheng Chen, Ik Soo Lee, MinKyun Na², Byung-Sun Min³,
Hyun-Ju Jung⁴, Eun-Kyoung Seo⁵ and KiHwan Bae*

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

¹Han Kook Shin Yak, Joongsan-ri, Yangchon-myeon, Nonsan, Chung cheongnamdo Prov., 805-15, Korea

²College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeong San 712-749, Korea

³College of Pharmacy, Catholic University of Daegu; Gyeongbuk 712-702, Korea

⁴Department of Oriental Pharmacy and Wonkwang-Oriental Medicines Research Institute,
Wonkwang University, Sinyoung-Dong, Iksan, 570-749, Korea

⁵The Center for Cell Signaling & Drug Discovery Research, College of Pharmacy,
Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Abstract – In this study, we analyzed and quantified the amounts of bioactive phenolic constituents, xanthotoxin (1), oxypeucedanin (2), and imperatorin (3) in each part of the root of *Angelica dahurica* by HPLC, which validated by ICH guide lines comparing the linearity, intra day precision, inter-day precision. As a result, the amount of imperatorin 2.96% in the rootlet was two fold higher than that of the main root 1.32%. On the other hand, the amounts of xanthotoxin and oxypeucedanin in the rootlet showed similar to those of main root. In addition, the cortex of root is more plentiful of three constituents (0.66%, 0.53%, and 1.85%) than those of xylem (0.29%, 0.05%, and 0.07%). These results show that the rootlet and cortex contain a large amount of bioactive phenolic constituent including xanthotoxin, oxypeucedanin, and imperatorin than other parts of the root.

Key words – *Angelica dahurica*, xanthotoxin, oxypeucedanin, imperatorin, HPLC

한방 생약자원 중 하나인 구릿대(*Angelica dahurica* Bentham et Hooker)는 산형과(Umbelliferae)에 속하는 2~3년생 초본이며 높이 1~2 m이고 밑부분은 지름 7~8 cm이며 윗부분에 잔털이 있고 가지가 갈라지며 뿌리가 굵다. 꽃은 백색으로 6~8월에 큰 겹산형 꽃차례로 달린다. 작은 꽃자루는 20~40개로 길이 4~6 cm이며 잔털기가 많고 총포는 없다. 10월에 열매가 성숙하고 열매는 분과로 편평한 타원형이고 길이 8~9 mm이며 가장자리의 것은 날개 모양이며 주로 냇가 습지에 자생한다. 어린잎은 식용이 가능하고 가을에 꽃대가

올라오기 전에 채취한 뿌리를 백지(白芷)라 한다. 백지의 약효는 거풍, 조습, 소종, 지통의 효능이 있고 두통, 치통, 미령골통(眉稜骨痛), 적백대하 및 개선을 치료한다.¹⁾

Kwon 등 및 Kim 등은 구릿대의 뿌리인 백지에서 수종의 coumarin glycoside들을 분리 동정하였고,^{2,3)} Kim 등은 terpinolene, 3-carene, piperonal 등 14종의 향기성분을 분리하였으며 0.45%의 정유성분을 함유하는 것으로 보고하였다.⁴⁾ 또한 Baek 등에 의해 furanocoumarins 등이 분리 보고되었으며,⁵⁻⁷⁾ xanthotoxin, imperatorin, oxypeucedanin과 같은 페놀성 화합물들의 약리활성에 관한 연구도 활발하여 Thanh 등에 의한 암세포에 대한 세포독성연구,⁸⁾ Kim 등에 의한 acetylcholinesterase 저해활성 연구 등이 보고되었다.⁹⁾ 또한,

*교신저자(E-mail): baekh@cnu.ac.kr
(Tel): +82-42-821-5925

화장품으로도 연구가 진행되어 Xiang 등에 의한 tyrosinase 억제활성 연구,¹⁰⁾ Cho 등에 의한 미백효능에 관한 연구가 진행되었다.¹¹⁾ 그러나 생약 전체의 각 부분에 대한 체계적인 페놀 성분의 함량 연구는 아직 미흡하다. 홍삼의 경우 뿌리의 모든 부분에서 성분연구 및 활성연구가¹²⁾ 이루어져 현재 전부분을 약용으로 이용하고 있다. 그러나 백지처럼 일부 생약에서는 아직도 세근뿐만 아니라 모양을 좋게 하기위해 표층이 깎여져 버려진체로 주근 및 목부 위주로 사용되고 있다. 이에 본 연구에서는 백지 각각의 부위에 대한 유효성분의 함량을 HPLC로 정량하여 비교 분석하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기 - Melting point는 Electrothermal apparatus를 이용하여 측정하였으며, UV 및 IR은 U-3000 spectrophotometer (Hitachi, Japan) and a FTS 135 FT-IR spectrometer (Bio-Rad, CA)을 이용하여 측정하였고, 구조분석을 위하여 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR은 Jeol 400 NMR spectrometer를 이용하여 측정하였다. 또한 분자량 측정은 JEOL JMS-700 Mstation mass spectrometer를 이용하였으며, 크로마트 그래피용 실리카겔은 silica gel 60 F254 (0.25 mm, Merck) Silica gel (230-400 mesh, Merck, Germany)을 사용하였다.

또한, 본 실험에 사용된 아세토니트릴은 HPLC용으로 J. T. Baker (NJ, USA)로부터 구입하였고, 그 외 시료 추출과 표준품 분리를 위한 용매는 국내의 특급 및 일급시약을 사용하였다. 물은 3차 증류수를 0.25 µm membrane filter로 여과하여 사용하였다. 실험에 사용된 HPLC system은 SCL-10A system controller, LC-10AD 펌프, SPD-10A UV-Vis 검출기 (Shimadzu, Kyoto, Japan)로 구성되었고, 컬럼은 Hichrom 5 C18 (25 cm × 4.6 mm, 5 µm)을 사용하였다. 3차 증류수의 제조에는 Milli-Q Apparatus (Millipore, MA, USA)를 사용하였다.

재료 - 본 실험에 사용된 구릿대(*Angelica dahurica* Bentham et Hooker)는 충남대학교 약초원에서 시료를 수집하여 뿌리 부분을 세절하고 뿌리 전체, 잔뿌리, 피층, 그리고 목질부로 구분하여 그늘에 말린 후 실험 재료로 사용하였고 (Fig. 1), 실험재료의 일부는 충남대학교 생약학 교실에 보관 중이다 (CNU1513). Xanthotoxin (1), oxypeucedanin (2), imperatorin (3)은 잘 건조된 구릿대 뿌리 50 g을 methanol로 추출하고 분획한 다음 dichloromethane 분획물을 open column chromatography (용출용매 hexane 및 ethyl acetate)를 실시하여 분리 정제한 후, mp, UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 및 Mass 등의 물리 화학적 방법을 이용하여 그 구조를 동정하였다. 각각의 구조는 Fig. 2에 나타내

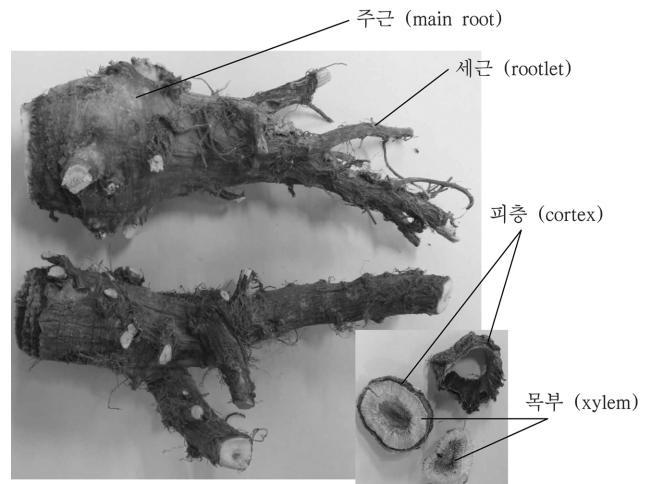


Fig. 1. The main root, rootlet, cortex, and xylem of the root of *Angelica dahurica*

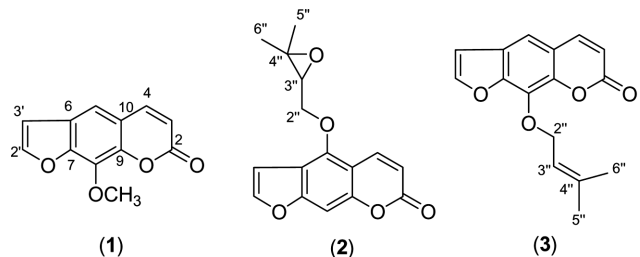


Fig. 2. Chemical structures of xanthotoxin (1), oxypeucedanin (2), and imperatorin (3).

었다.

추출 및 분획 - 구릿대 뿌리는 충남대학교 약초원에서 채집하여 그늘에서 말려 세절 한 후 각각 15 g씩 methanol 300 ml로 60°C에서 2시간씩 2회 환류 추출하여 MeOH ex.를 얻었다. 이것을 dichloromethane으로 분획한 후 감압 농축하였다. 건조된 추출물을 5 mg씩 취하여 메탄올 1 ml에 녹여 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 HPLC로 분석하였다.

표준액의 조제 - 분리, 동정한 xanthotoxin, oxypeucedanin 그리고 imperatorin을 methanol로 희석하여 검량선용 표준 용액으로 하였다.

HPLC 분석 방법 - 사용기기는 HPLC system은 SCL-10A system controller, LC-10AD 펌프, SPD-10A UV-vis 검출기 (Shimadzu, Kyoto, Japan)이었다. 분석방법으로는 Hichrom 5 C18 (25 cm × 4.6 mm, 5 µm) 컬럼을 사용하였고, 이동상은 0에서 25 min 사이는 CH₃CN : 30% CH₃CN (10:90, v/v)을 30에서 60 min 사이는 CH₃CN : 30% CH₃CN (40:60, v/v)을 0.8 ml/min의 유속으로 용출시켰으며, 305 nm 파장에서 검출하였고 실온에서 HPLC를 수행하였다. 주입용량은 20 µl로 하였고 3회 반복 실험하였다.

결과 및 고찰

Xanthotoxin (1) – White crystal; mp 146-147°C; UV λ_{\max} (MeOH): 220 nm; IR ν_{\max} cm^{-1} : 1720 (C=O of lactone ring), 1620, 1590 (aromatic), 1400, 1300 (C-O-C stretching, asymmetric) 1150, 1100, 1080 (benzofuran); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 4.29 (3H, s, 8-OMe), 6.38 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 6.83 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-3'), 7.36 (1H, s, H-5), 7.70 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.77 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 61.7 (8-OMe), 107.1 (C-3'), 113.3 (C-5), 115.2 (C-3), 116.9 (C-10), 126.5 (C-6), 133.2 (C-8), 143.4 (C-9), 144.7 (C-4), 147.0 (C-2'), 148.1 (C-7), 160.8 (C-2).

Oxypeucedanin (2) – White crystal; mp 142-143°C; UV λ_{\max} (MeOH): 221 nm; IR ν_{\max} cm^{-1} : 1720 (C=O of lactone ring), 1620, 1600, 1580 (aromatic) 1440, 1210 (C-O-C stretching, asymmetric), 1160, 1120, 1100 (benzofuran); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.35 (3H, s, H-6"), 1.43 (3H, s, H-5"), 3.25 (1H, dd, $J = 4.5, 6.6$ Hz, H-3"), 4.45 (1H, dd, $J = 6.6, 10.8$ Hz, H-2a"), 4.61 (1H, dd, $J = 4.5, 10.8$ Hz, H-2b"), 6.33 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 6.96 (1H, dd, $J = 0.9, 2.4$ Hz, H-3'), 7.22 (1H, br.s, H-8), 7.63

(1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 8.22 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 19.4 (C-6"), 25.0 (C-5"), 58.7 (C-4"), 61.5 (C-3"), 72.8 (C-2'), 95.4 (C-8), 104.9 (C-3'), 107.9 (C-10), 113.6 (C-3), 114.7 (C-6), 139.3 (C-4), 145.7 (C-2'), 148.8 (C-5), 153.0 (C-9), 158.6 (C-7), 161.4 (C-2).

Imperatorin (3) – White powder; mp 102°C; UV λ_{\max} (MeOH): 250 nm; IR ν_{\max} cm^{-1} : 1720 (C=O of lactone ring), 1620, 1600, 1580 (aromatic) 1400, 1200 (C-O-C stretching, asymmetric), 1150, 1080 (benzofuran); $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.74 (3H, s, H-6"), 1.76 (3H, s, H-5"), 5.02 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, H-2"), 5.60 (1H, t-like, $J = 6.9$ Hz, H-3"), 6.37 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 6.83 (1H, dd, $J = 0.9, 2.1$ Hz, H-3'), 7.36 (1H, s, H-5), 7.70 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.76 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 18.5 (C-5"), 26.2 (C-6"), 70.5 (C-2"), 107.1 (C-3'), 113.1 (C-5), 115.1 (C-3), 116.9 (C-10), 120.2 (C-3"), 126.2 (C-6), 132.1 (C-8), 140.1 (C-4"), 144.3 (C-9), 144.7 (C-4), 147.0 (C-2'), 149.0 (C-7), 160.9 (C-2).

표준물질의 확인 – 구릿대 뿌리로부터 분리, 동정한 xanthotoxin, oxypeucedanin, imperatorin의 표준물질에 의한

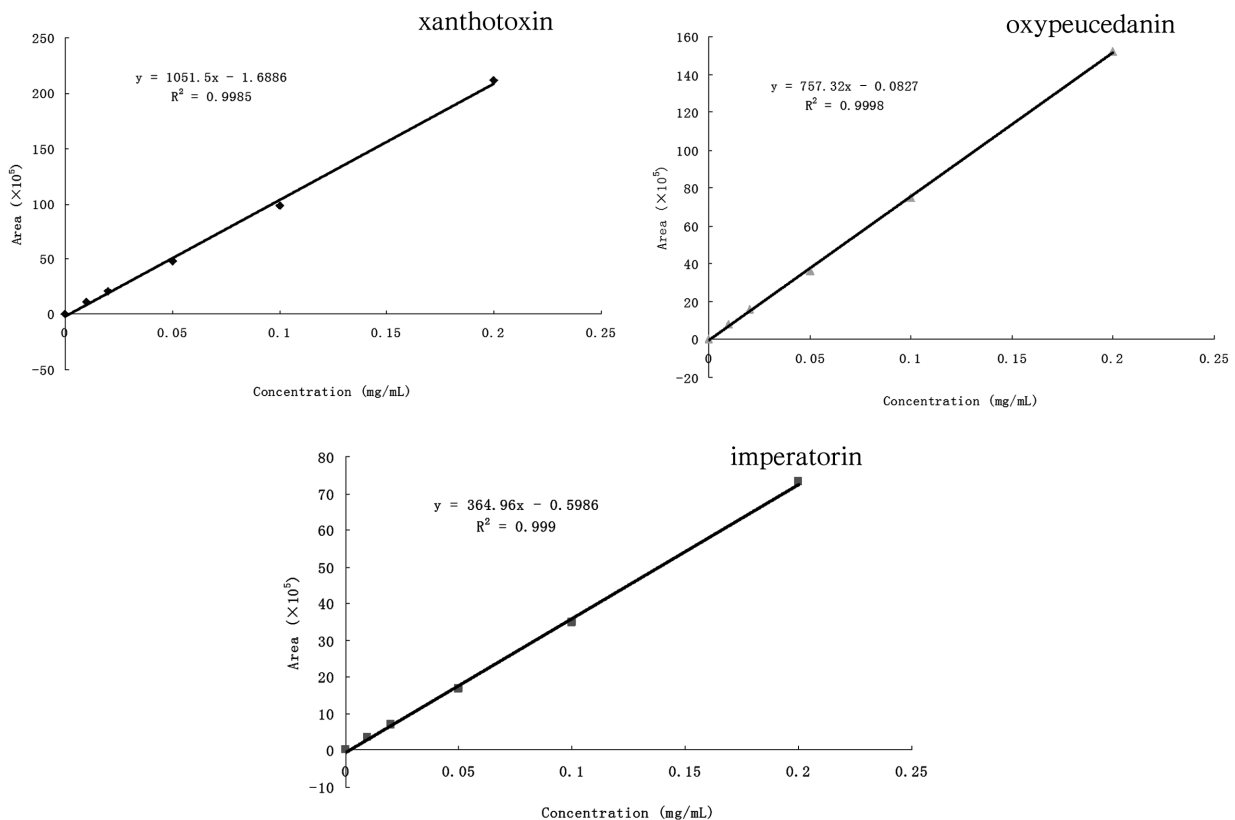


Fig. 3. Calibration curves of xanthotoxin, oxypeucedanin, and imperatorin.

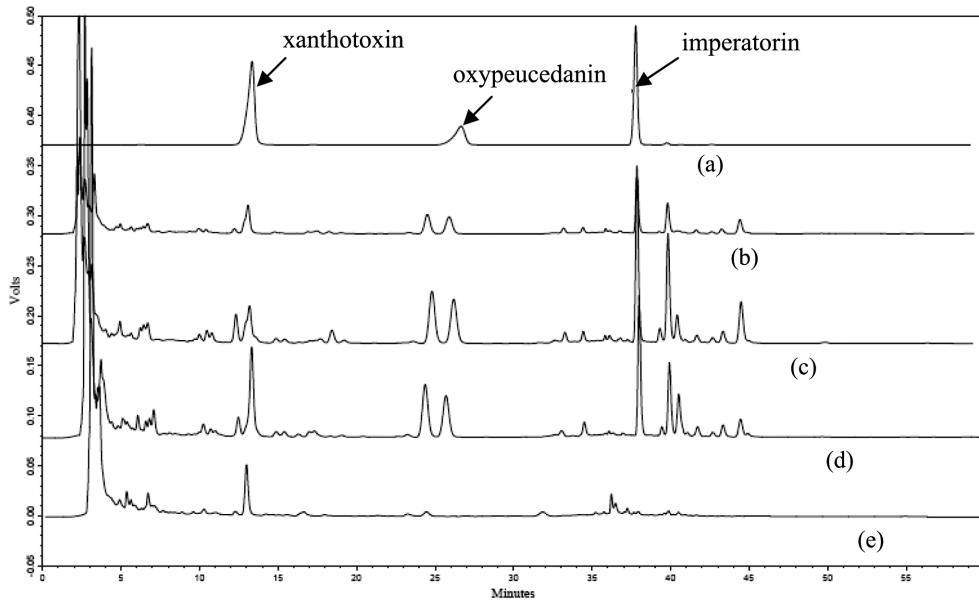


Fig. 4. HPLC chromatogram of standards and the extracts from the roots of *Angelica dahurica* species.

(a) Standards : xanthotoxin, oxypeucedanin and imperatorin, (b) The extract of the main root, (c) The extract of the rootlet, (d) The extract of the cortex of root, (e) The extract of the xylem of root

calibration curve에서 각각의 회귀방정식은 $y = 1051.5x - 1.6886$ 와 $y = 757.32x - 0.0827$, $y = 364.96x - 0.5986$ 였고, R^2 은 각각 0.9985, 0.9998, 0.9990로서 1에 가까운 양호한 직선성을 나타내었다 (Fig. 3). 또한 xanthotoxin, oxypeucedanin과 imperatorin의 일내 정밀도와 일간 정밀도는 각각 xanthotoxin이 1.02~4.84%, 2.52~6.36%, oxypeucedanin이 1.03~4.18%, 2.21~4.72%, imperatorin이 1.08~5.88%, 3.38~6.14%이었다.

유효성분 함량 분석 - 구릿대 뿌리 전체, 잔뿌리, 피층 그리고 목질부 시료에 대하여 HPLC 방법으로 세 가지 유효성분의 함량을 각각 구하였다 (Fig. 4). 뿌리 전체의 함량을 측정된 결과 xanthotoxin은 0.44%, oxypeucedanin은 0.43%, imperatorin은 1.32%로 고른 함량을 보였다. 잔뿌리에서는 xanthotoxin의 함량은 0.47%였고, oxypeucedanin은 0.77%, imperatorin은 2.96%로 뿌리 전체와 비교했을 때 xanthotoxin의 함량은 비슷하였으나 oxypeucedanin과 imperatorin의 함량은 훨씬 높았다. 뿌리의 피층은 xanthotoxin이 0.66%, oxypeucedanin은 0.53%, 그리고 imperatorin은 1.85%의 함량을 보였고, 뿌리의 목질부에서 xanthotoxin은 0.29%, oxypeucedanin은 0.05%, imperatorin은 0.07%이었다 (Table I).

이상의 결과에서 보듯이 유효성분의 함량이 뿌리의 피층에서 비교적 고르고 높은 반면 뿌리의 목질부에서는 전체적으로 매우 낮았다. 특이하게도 imperatorin의 함량은 잔뿌리에서 상대적으로 가장 높게 나타났다. 이로 보아 뿌리 전체 (main root)나 뿌리의 기타 부위와 비교해 잔뿌리 (rootlet)

Table I. Contents of xanthotoxin (1), oxypeucedanin (2), and imperatorin (3) in the dichloromethane fractions from the main root (A), rootlet (B), cortex of root (C), and xylem of root (D)

Sample	Contents (%)		
	1	2	3
A	0.44±0.02	0.43±0.02	1.32±0.03
B	0.47±0.02	0.77±0.02	2.96±0.03
C	0.66±0.03	0.53±0.01	1.85±0.02
D	0.29±0.01	0.05±0.01	0.07±0.01

The data are given as mean±S. D. from three measurements.

의 약효가 더 강할 것으로 예측되며 효용 가치도 높을 것으로 생각된다. 또한, 약재로 사용 할 때 피층 부분을 너무 깎아 버리지 않도록 주의하고, 잔뿌리도 모두 사용하는것이 바람직 할 것으로 사료된다. 각 부분의 추가적인 활성연구도 필요하다.

결 론

본 연구에서는 구릿대의 주근, 세근, 피층 그리고 목질부로 나누어 유효 성분들의 함량을 비교 분석하기위하여 HPLC로 정량하였으며, 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 구릿대 뿌리 전체의 함량을 측정된 결과 xanthotoxin은 0.44%, oxypeucedanin은 0.43%, imperatorin은 1.32%의 함량을 나타내었다.

2. 잔뿌리에서는 뿌리 전체와 비교했을 때 xanthotoxin의 함량은 비슷하였으나 oxypeucedanin은 1.5배 그리고 imperatorin은 2배 이상의 함량을 나타내었다.

3. 뿌리의 피층은 xanthotoxin이 0.66%, oxypeucedanin은 0.53%, 그리고 imperatorin은 1.85%의 함량으로 비슷하였다.

4. 뿌리의 목질부에서 xanthotoxin은 0.29%, oxypeucedanin은 0.05%, imperatorin은 0.07%으로 적은 함량을 나타내었으며, Fig. 4에서 보는 바와같이 3개의 주성분 외에도 세균에서는 다른 부위보다 성분들의 함량이 대부분 높은 것으로 나타났다. 그러므로 성분학적으로는 세균이 주근보다 더 유용할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Bae, K. (1999) The Medicinal Plants of Korea, 114. Kyo-Hak Publishing Co., Seoul.
- Kwon, Y. S. and Kim, C. M. (1992) Coumarine glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *Kor. J. Pharmacogn.* **23**: 221-224.
- Kim, S. H., Kang, S. S. and Kim, C. M. (1992) Coumarine glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch. Pharm. Res.* **15**: 73-77.
- Kim, S. K., Kim, Y. H., Kang, D. K., Chung, S. H., Lee, S. P. and Lee, S. C. (1998) Essential oil content and composition of aromatic constituents in leaf of *Saururus chinensis*, *Angelica dahurica* and *Cnidium officinale*. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* **6**: 299-304.
- Baek, N. I., Ahn, E. M., Kim, H. Y. and Park, Y. D. (2000) Furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch. Pharm. Res.* **23**: 467-470.
- Lee, S. H., Li, G., Kim, H. J., Kim, J. Y., Chang, H. W., Jahng, Y., Woo, M. H., Song, D. K. and Son, J. K. (2003) Two new furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica*. *Bull. Kor. Chem. Soc.* **24**: 1699-1701.
- Ban, H. S., Lim, S. S., Suzuki, K., Jung, S. H., Lee, S., Lee, Y. S., Shin, K. H. and Ohuchi, K. (2003) Inhibitory effects of furanocoumarins isolated from the roots of *Angelica dahurica* on prostaglandin E2 production. *Planta Med.* **69**: 408-412.
- Thanh, P. N., Jin, W. Y., Song, G., Bae, K. and Kang, S. S. (2004) Cytotoxic coumarins from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 1211-1215.
- Kim, D. K., Lim, J. P., Yang, J. H., Eom, D. O., Eun, J. S. and Leem, K. H. (2002) Acetylcholinesterase inhibitors from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch. Pharm. Res.* **25**: 856-859.
- Piao, X. L., Baek, S. H., Park, M. K. and Park, J. H. (2004) Tyrosinase-Inhibitory furanocoumarin from *Angelica dahurica*. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 1144-1146.
- Cho, Y. H., Kim, J. H., Park, S. M., Lee, B. C., Pyo, H. B. and Park, H. D. (2006) New cosmetic agents for skin whitening from *Angelica dahurica*. *J. Cosmet. Sci.* **57**: 11-21.
- Hwang, E. Y. and Choi, S. Y. (2006) Quantitative Analysis of Phenolic Compounds in Different parts of *Panax ginseng* C.A. Meyer and Its Inhibitory Effect on Melanin Biosynthesis. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **14**: 148-152.

(2010. 8. 4 접수; 2010. 8. 18 심사; 2010. 8. 23 게재확정)