

경북산 현삼과 중국산 현삼의 비교: Harpagoside 함량 및 Nitric Oxide 저해활성

장해연 · 김금진 · 황인현 · 조희재¹ · 이승호 · 나민균*
영남대학교 약학대학, ¹(재)대구경북한방산업진흥원

Comparison of the Scrophulariae Radix of Gyeongbuk's with that of Chinese: Content of Harpagoside and Inhibitory Effect of Nitric Oxide

HaiYan Zhang, Geum Jin Kim, In Hyun Hwang, Hi Jae Cho¹, Seung Ho Lee and MinKyun Na*

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-749, Korea

¹Daegu · Gyeongbuk Institute for Oriental Medicine Industry, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-260, Korea

Abstract – Scrophulariae Radix (Scrophulariaceae) has been traditionally used to treat pharyngitis, laryngitis, tonsillitis, fever, and edema. To compare the quality of the Scrophulariae Radix produced from Gyeongbuk with that from China, a quantitative analysis on the major component, *E*-harpagoside, was performed by reversed-phase HPLC, and a relative inhibitory activity of nitric oxide (NO) was assayed in the Raw 264.7 cells. Using a Luna C₁₈(2) column, we carried out quantitative analysis with a gradient of 0.1% phosphoric acid in water and acetonitrile. Our results demonstrated that the content of *E*-harpagoside in Gyeongbuk's Scrophulariae Radix were three times higher than that of Chinese. Moreover, the inhibitory activity of Scrophulariae Radix of Gyeongbuk's in the lipopolysaccharide (LPS)-induced NO production was higher than that of Chinese.

Key words – Scrophulariae Radix, Scrophulariaceae, *E*-harpagoside, Quantitative analysis, Inhibition of nitric oxide

현삼(玄蔘)은 현삼과(Scrophulariaceae) 현삼(*Scrophularia buergeriana* Miq.)의 건조된 根으로써 한국에서는 *Scrophularia buergeriana* Miq.¹⁾을, 중국에서는 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.²⁾를 기원식물로 사용하고 있다. 현삼(*S. buergeriana*)은 다년생 초본이며 높이는 80~150 cm 정도이다. 줄기는 사각형이고 곧게 섰고 털이 없다. 잎은 마주나고 잎자루가 있는 장란형 또는 난상 피침형에 잎 밑이 둥글거나 다소 일자형으로 끝이 날카롭고 톱니가 있다. 꽃은 연한 황록색으로 8~9월에 피고 뿌리는 살이 찌서 덩이 모양을 이룬다.^{3,4)} 약용부인 건조된 根의 형태적 특징은 불규칙하게 구부러지고 긴 원주형~방추형으로 길이 4~15 cm, 지름 1~3 cm이다. 바깥 면은 황갈색~갈색이고 거친 세로주름이 있으며 옆으로 긴 피목과 드문드문 잔뿌리가 있었던 자국이 있다. 질은 단단하면서도 유연하여 꺾기 힘들고 꺾인 면은 흑갈색을 띤다. 특이한 냄새가 있고 맛은 약간 달며 후에는 조금 쓰다.⁵⁾ 형태상으로 보면 *S. buergeriana*는 줄기에 털이 없으나 *S. ningpoensis*는 柔毛가 나있기도 하며 전체적으로 *S.*

*buergeriana*가 *S. ningpoensis* 보다 약간 커다란다는 것이 외형적 차이점이라 할 수 있다.⁶⁾ 우리나라에서 자생하는 현삼으로는 현삼(*S. buergeriana* Miq.), 토현삼(*S. koraiensis* Nakai), 큰개현삼(*S. kakudensis* Franchet), 섬현삼(*S. takesimensis* Nakai) 등이 있으나 생산량이 적어서 현재는 중국에서 수입한 중국현삼(*S. ningpoensis*)을 많이 사용하고 있다.⁷⁾

현삼은 苦, 甘, 鹹, 寒 성미가 있는 청열양혈(淸熱涼血)약으로서 열독에 의한 인후종통(咽喉腫痛), 옹종창독(癰腫瘡毒), 심번실면(心煩失眠), 발진(發疹) 등 염증성질환에 효능이 있으며,^{1,3,4,8)} 한방에서는 현삼승마탕(玄蔘升麻湯), 증액탕(增液湯), 현삼해독탕(玄蔘解毒湯), 소화보음탕(消火補陰湯) 등의 처방에 사용하고 있다.³⁾

현삼의 성분으로는 iridoid계 화합물인 *E*-harpagoside, *Z*-harpagoside, harpagide, buergerinin F, G, 8-(*O*-methyl-*p*-coumaroyl)-harpagide, 8-*O*-*E*-*p*-methoxycinnamoylharpagide, 6'-*O*-*E*-*p*-methoxycinnamoylharpagide, phenylpropanoid계 화합물인 *p*-methoxycinnamic acid, buergeriside A₁, B₁, C₁,^{9,10)} flavonoid계 화합물인 diosmin, diosmetin, acacetin rhamnoside 등이 알려져 있다.³⁾ 이외에 정유성분과 미량의 alkaloid, 당

*교신저자(E-mail): mkna@ynu.ac.kr
(Tel): +82-53-810-2820

류, sterol, amino acid, 지방산, 정유 caroten 등이 함유되어 있다.¹¹⁾

Buergerisides A₁ - C₁, E-harpagoside, Z-harpagoside 및 cinnamic acid 유도체 등은 glutamate로 유도한 뇌신경세포 손상으로부터 뇌신경세포를 보호한다고 밝혀졌을 뿐만 아니라^{12,13)} scoplamine으로 유도한 기억력감퇴와 공간지각력의 손상을 개선한다는 연구결과가 있다.^{14,15)} 이외에, 현삼에 대한 연구로는 지질과산화반응억제 등의 항산화효과,¹⁶⁾ 항우울 효과,¹⁷⁾ phenylpropanoid glycosides의 항염증효과,¹⁸⁾ E-p-methoxycinnamic acid의 항치매작용,¹⁴⁾ iridoid인 scropolioside-D2와 harpagoside-B의 항당뇨효과와 항염증효과,¹⁹⁾ CCl₄로 유도된 간독성에 대한 phenylpropanoid성분의 간세포 보호 효과,²⁰⁾ acylated iridoid glycosides의 상처치유 효과,²¹⁾ gram-negative bacterial infection에 의한 염증 또는 NO 및 proinflammatory cytokine생성과 관련된 면역치료와 같은 항염증효과²²⁾ 등이 보고되어 있다.

이와 같은 많은 연구결과에 근거하여 현삼을 이용한 천연물신약, 건강기능성식품, 기능성화장품 등 다양한 제품 개발이 시도되고 있으므로, 향후 현삼의 수요가 크게 증가할 것으로 예상된다. 한편, 한국수출입의약협회의 보고에 따르면, 국내 한약재의 수입과 수출이 심각한 불균형 상태를 이루고 있으며, 수입액이 수출액의 10배를 넘고 일부 생약은 전적으로 수입에 의존하고 있는 것으로 나타났다.²³⁾ 국내의 한약재 생산현황을 보면, 경북은 현재 전국 한약재 수확면적의 20.7%를 차지하고 있으며, 현삼의 생산량은 전국 1위를 차지하고 있다.²⁴⁾ 그러나 경북산 현삼이 중국산과 비교해 품질의 우수성을 입증할 만한 과학적 근거자료는 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 경북산 현삼의 경쟁력 제고를 위하여 현삼의 생리활성 주성분인 E-harpagoside를 지표성분으로 설정하여 경북산 현삼(*S. buergeriana*)과 중국산 현삼(*S. ningpoensis*)을 비교분석 하였다. 뿐만 아니라 경북산 현삼과 중국산 현삼의 nitric oxide(NO) 생성 저해활성을 측정함으로써 생물학적 품질도 비교분석 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 연구에 사용한 경북산 현삼은 경북 안동시에서 생산된 것을 영남대학교 약학대학 나민균 교수의 검증을 받아 사용하였으며, 중국산 현삼은 대구 약령시 및 금산 약초시장에서 유통되는 현삼 중 원산지가 중국인 것을 사용하였다. 실험재료의 확정표본은 영남대학교 약학대학 생약학연구실에 보관중이다.

시약 및 기기 - NMR은 Bruker 250 MHz (DMX 250)를 이용하여 측정하였으며, MS는 electrospray ionization (ESI) source가 결합된 LCQ advantage-trap mass spectrometer

(Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA)를 사용하였다. 용점은 melting point apparatus (Fisher-Johns)를 사용하여 측정하였고, 자외선 및 적외선 흡광도 측정은 각각 UV/VIS Spectrometer V-550 (JASCO)와 FT/IR Spectrometer-300E (JASCO)를 사용하였다. HPLC는 Gilson system (321 Pump, UV/VIS 155 Detector, Trilution™ LC 1.4 system)을 사용하였으며, 컬럼은 Luna C₁₈(2) (4.6 × 250 mm)을 사용하였다. 추출 및 분획 용매는 순도 95% 이상의 1급 용매를 사용하였으며, TLC 및 column용 시약 및 용매는 순도 99.5% 이상의 특급시약을 사용하였다. TLC plate는 Kiesel gel 60 F₂₅₄ precoated plate (Art. 1.07752, Merck)를 사용하였다.

지표물질의 추출 및 분리 - 현삼 추출물을 조제하고 여러 가지 이동상 조건에서 HPLC 분석을 실시하였다. 초기 이동상 조건 ① MeOH-H₂O, ② MeOH-H₂O (0.1% HCOOH), ③ MeCN-H₂O, ④ MeCN-H₂O (0.1% HCOOH) 중에서는 ④번 조건의 분리도가 우수하였으며, 0.1%, 0.5%, 1% HCOOH, 0.1%, 0.5%, 1% CH₃COOH, 0.1% phosphoric acid를 첨가하여 분석해 본 결과, 0.1% phosphoric acid를 사용하였을 때 분리도가 가장 우수하였다. 최종적으로 분취용 HPLC를 이용하여 분석조건에서 t_R 12, 13, 18 min에 해당하는 화합물의 분리를 시도하였으며 그 결과, 분석조건에서 t_R 12 min에 해당하는 화합물 **1** (20 mg)을 순수 분리/정제 하였다.

HPLC 분석을 위한 표준액의 제조 - 현삼에서 분리한 화합물 **1** (Fig. 1) 5 mg을 표준물질로 하고 MeOH 1 ml에 용해하여 stock solution을 제조하고 이를 계열 희석하여 최종 농도가 40, 125, 200, 250, 500 µg/ml이 되도록 시료를 만들고 0.45 µm syringe filter로 여과하여 사용하였다.

현삼 검액의 제조 - 현삼을 분쇄한 분말 2 g에 HPLC용 MeOH 10 ml를 가하여 60°C에 30분 초음파 추출한 후 여과하고, 잔류물에 MeOH 10 ml를 넣어 같은 방법으로 2회 반복 실시한 후 여액을 모두 합하여 정확하게 20 ml로 맞추었다. 이를 0.45 µm syringe filter로 여과하여 검액으로 사용하였다.

HPLC 분석 조건 - 현삼으로부터 분리한 화합물 **1**을 지

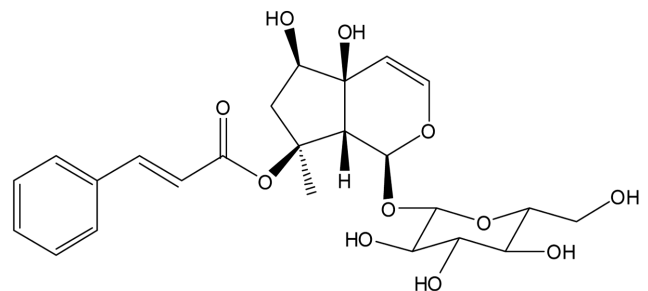


Fig. 1. Chemical structure of E-harpagoside.

표 물질로 하고 column은 Luna C₁₈(2) (4.6 × 250 mm)를 사용하였고, 검출기는 UV 280 nm, 이동상으로는 MeCN/0.1% phosphoric acid (28:72)로 시작하여 20분 동안 MeCN/0.1% phosphoric acid (40:60)로 기울기 용리시켰으며, 유속은 1 ml/min, 주입량은 30 µl로 하였다.

확립된 분석법의 Validation – 확립한 분석법에 대한 validation을 하기 위해 peak 면적과 화합물의 양과의 상관관계를 이용하여 검량선을 작성하는 방법으로 직선성 확인, 회귀직선방정식을 이용하여 표준액을 1일 3회 측정하는 intra-day test와 1일 1회 3일 측정하는 inter-day test 방법으로 정밀성 확인, 함량이 확인된 현삼 시료에 지표성분을 첨가하여 함량 평가하는 방법으로 정확성 확인 실험을 실시하였다.

경복산 현삼 및 중국산 현삼의 성분함량 비교 – 경복산 현삼 및 중국산 현삼의 검역을 확립된 HPLC 조건으로 분석하고 표준품에 해당하는 peak 면적을 회귀방정식에 대입하여 화합물의 농도를 구하여 비교하였다 (Fig. 2).

세포배양 – Murine macrophage cell line인 Raw 264.7 세포는 Korean Cell Line Bank로부터 분양받았으며, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에 10% fetal bovine serum (FBS), 100 U/ml penicillin, 및 100 µg/ml streptomycin, 100 µM MEM non-essential amino acid solutions을 혼합한 배지를 사용하여 배양하였다. 실험과정의 모든 세포는 80%-90%의 confluent에서 실험하였고, 20 passages를 넘기지 않은 세포만 사용하였다.

Nitric oxide(NO)의 측정 – Raw 264.7 세포 (5 × 10⁵ cells)를 37°C에서 12 h 배양하고, 생성된 NO의 양을 Griess 시약 (1% sulfanilamide, 0.1% N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride, and 2.5% phosphoric acid)을 이용하여 10분 동안 반응시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 sodium nitrite 용액을 이용하여 작성하였고, 이를 이용하여 흡광도 평균을 nitrite양으로 환산하여 비교하였다.

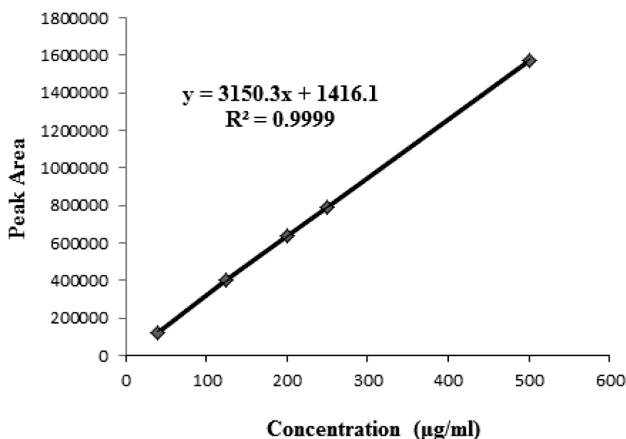


Fig. 2. Calibration curve for *E*-harpagoside.

통계분석 – 본 연구의 실험결과는 mean ± S.D.로 표시하였다. 통계처리는 SPSS 12.0 K for Windows 프로그램을 사용하였으며, student's *t*-test를 이용하여 평균값의 유의성을 5% ($p < 0.05$) 미만의 한계로 조사하였다.

결과 및 고찰

현삼에서 지표성분의 분리 및 동정 – 현삼 추출물에 대한 HPLC 분석조건을 검색한 후 분취용 HPLC를 이용하여 분석조건에서 t_R 12 min에 해당하는 화합물 **1**을 순수 분리/정제 하였다. ¹H-NMR spectrum에 나타난 5개의 aromatic protons (δ 7.35, 3H, m; δ 7.54, 2H, m)과 2개의 *trans* olefinic proton signals [δ 6.46 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β)]로부터 하나의 cinnamic acid moiety가 확인되었으며, δ_H 6.12 (1H, s, H-1)에서 iridoid glycoside의 특징적인 peak가 관찰되었다. 또한 δ_H 4.57 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1')에서는 anomeric proton peak가 관찰되었고 δ_H 4.55 (1H, partially overlapped, H-4) 과 6.36 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-3)에서는 2개의 olefinic proton signals이 관찰되었으며, 1.47 (3H, s, H-10)에서는 하나의 메틸 peak가 관찰되었다. ¹³C-NMR spectrum에서도 iridoid glycoside의 전형적인 신호인 δ_C 94.6 (C-1), 144.0 (C-3) 및 106.8 (C-4)이 관찰되었다. 또한, δ_C 135.7 (C-1''), 130.0 (C-2'', 6''), 129.2 (C-3'', 5''), 131.6 (C-4''), 및 168.8 (C=O)로부터 cinnamic acid moiety가 확인되었고, 하나의 anomeric carbon (δ_C 100.0)과 74.5 (C-2'), 77.7 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.9 (C-6')의 신호로부터 glucose 환 분자가 치환된 구조임을 알 수 있었다. 그리고 δ_C 73.5 (C-5) 와 77.6 (C-6)에 나타나는 두 개의 oxygenated carbon signals로부터 두 개의 hydroxyl group이 치환되어 있음을 알 수 있었다. 이상의 분광학적 분석결과를 종합하여 분리된 화합물 **1**은 *E*-harpagoside (Fig. 1)인 것으로 확인 되었으며, mp, UV, IR, MS 및 NMR data를 문헌치¹⁰⁾와 비교하여 그 구조를 동정하였다.

화합물 1 – mp 212-214°C; UV_{max} (MeOH) 205, 217, 222 (sh), 280 nm; IR_{max} 3200, 3050, 2900, 1695, 1610, 1580, 1075 cm⁻¹; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD) δ : 1.47 (3H, s, H-10), 1.95 (1H, dd, $J = 15.1, 4.4$ Hz, H-7a), 2.21 (1H, d, $J = 15.1$ Hz, H-7b), 2.88 (H, s, H-9), 3.13 - 3.90 (sugar H), 3.71 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-6), 4.55 (1H, partially overlapped, H-4), 4.57 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 6.12 (1H, s, H-1), 6.36 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-3), 6.46 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 7.35 (3H, m, H-3'', 4'', 5''), 7.54 (2H, m, H-2'', 6''), 7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β); ¹³C-NMR (62.5 MHz, CD₃OD) δ : 94.6 (C-1), 144.0 (C-3), 106.8 (C-4), 73.5 (C-5), 77.6 (C-6), 46.2 (C-7), 88.8

(C-8), 55.5 (C-9), 22.6 (C-10), 100.0 (C-1'), 74.5 (C-2'), 77.7 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.9 (C-6'), 135.7 (C-1''), 130.0 (C-2'', 6''), 129.2 (C-3'', 5''), 131.6 (C-4''), 120.1 (C- α), 146.1 (C- β), 168.8 (C=O); ESIMS m/z 495 [M + H]⁺.

지표물질의 함량분석법 확립 – MeCN과 0.1% phosphoric acid로 구성된 이동상의 조건은 MeCN/0.1% phosphoric acid (28:72)로 시작하여 20분 동안 MeCN/0.1% phosphoric acid (40:60)로 기울기 용리시켰다. 검출은 UV 280 nm로 설정하였다. 지표성분의 peak는 retention time과 UV spectra를 비교하여 확인하였으며 다른 피크의 간섭이 없이 분리되어 우수한 분석 조건이 확립되었음을 확인할 수 있었다.

직선성, 검출한계, 정량한계 (Linearity, LOD, LOQ) – *E-harpagoside* 5 mg을 MeOH 1 ml에 용해하여 stock solution을 제조하고 이를 계열 희석하여 최종농도가 40, 125, 200, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$ 이 되는 검액을 조제하고 확립한 분석법으로 *E-harpagoside* 표준품 검액을 반복 분석하였고 농도에 대한 peak area 값을 기준으로 검량선을 작성하였다. 그 결과 직선성의 *E-harpagoside* 회귀방정식 ($y = 3150.3x + 1416.1$)을 얻었고 이때 상관계수는 0.999로 1에 근접하여 탁월한 직선성을 나타내었다 (Fig. 2). 분석 검출법의 예민도를 나타내는 기준인 검출한계 (LOD)와 정량한계 (LOQ)를 측정된 결과, LOD 값은 10.68 $\mu\text{g/ml}$, LOQ 값은 32.38 $\mu\text{g/ml}$ 를 나타내었다 (Table I).

정밀성 평가 (Precision Test) – 표준물질을 반복 측정하여 결과 값의 편차 정도인 상대표준편차 (RSD%)를 통해 정밀성을 평가하였다. 정밀성 평가를 위해 inter-day와 intra-day test를 실시하였다. Inter-day test는 지표물질의 표준 용액을 3가지 농도로 희석하고 하루 간격으로 날짜를 변경하여 각 농도의 표준용액을 3회 반복 측정하였다. Intra-day test는 inter-day test와 같은 3가지 농도의 표준 용액을 하루 동안에 3회 반복 실험하여 측정하였다. Intra-day test와 inter-

day test 결과, 각각 0.47~0.51%와 0.45~0.56%의 상대표준편차 (RSD%) 값을 나타내었다. Inter-day와 intra-day 모두 RSD%가 1% 이하로 분석법의 정밀성을 확인하였다 (Table II).

정확성 평가 (Accuracy/Recovery) – 함량이 확인된 현삼 시료에 지표성분인 *E-harpagoside*을 가한 후 함량을 평가하여 정확성을 측정된 결과 98.6~100.4%의 정확성을 나타내었으며 또한 1.0%이하의 상대표준편차를 나타내었다 (Table II).

확립된 분석법을 이용한 현삼의 함량 평가 – 확립된 HPLC 분석조건을 이용하여 경북산 현삼과 중국산 현삼을 분석한 결과, *E-harpagoside*의 피크가 모두 t_R 11 min에 나타났다 (Fig. 3, 4). *E-harpagoside*를 지표성분으로 설정하여 경북산 현삼과 중국산 현삼을 정량분석한 결과, 경북산 현삼에는 *E-harpagoside*가 0.592~0.721 mg/g, 중국산 현삼에는 0.184~0.270 mg/g 함유된 것으로 나타났다. 즉, *E-harpagoside*의 평균함량은 경북산 현삼이 평균 $0.068 \pm 0.007\%$ 로써 중국산 현삼의 평균 $0.023 \pm 0.004\%$ 보다 약 3배 정도 높은 것으로 나타났다 (Table III).

Nitric oxide(NO) 생성 저해활성 – 경북산 현삼과 중국산 현삼 추출물의 NO 생성 저해활성을 관찰하기 위하여 경북산 현삼과 중국산 현삼 추출물을 각각 50, 100, 200, 300, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 세포에 처리하였다. Raw 264.7에 LPS를 처리한 후 생성된 NO 양은 Griess 시약을 이용하여 NO₂⁻의 형태로 측정된 결과, 경북산 현삼 및 중국산 현삼 추출물 모두 대조군인 LPS 단독처리군에 비해 농도 의존적으로 유의성 있는 NO 생성 저해활성을 나타내었다. LPS를 200 ng/ml의 농도로 처리한 대조군의 NO 생성량은 25.94 μM 로 현저히 증가하였으나, 경북산 현삼 추출물을 각각 50, 100, 200, 300, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 실험군의 NO 생성량은 각각 24.78, 23.14, 21.56, 19.55, 11.69 μM 로써 유의적으로 NO 생성을 저해하는 것으로 나타났다. 또한, 중국산

Table I. Range, linearity, LOD, and LOQ

Standard	Range ($\mu\text{g/ml}$)	Slope	Intercept	Correlation coefficient	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)
<i>E-harpagoside</i>	40-500	3.1503	1.4161	0.9999	10.68	32.38

Table II. Precision and Accuracy

Comp.	Spiked conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Intra-day (n=3)				Inter-day (n=3)			
		Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	SD	Precision RSD (%)	Accuracy (%)	Observed conc. ($\mu\text{g/ml}$)	SD	Precision RSD (%)	Accuracy (%)
<i>E-harpagoside</i>	10	9.86	0.05	0.51	98.6	10.04	0.05	0.50	100.4
	20	19.82	0.10	0.50	99.1	19.79	0.11	0.56	99.0
	40	40.03	0.19	0.47	100.1	39.88	0.18	0.45	99.7

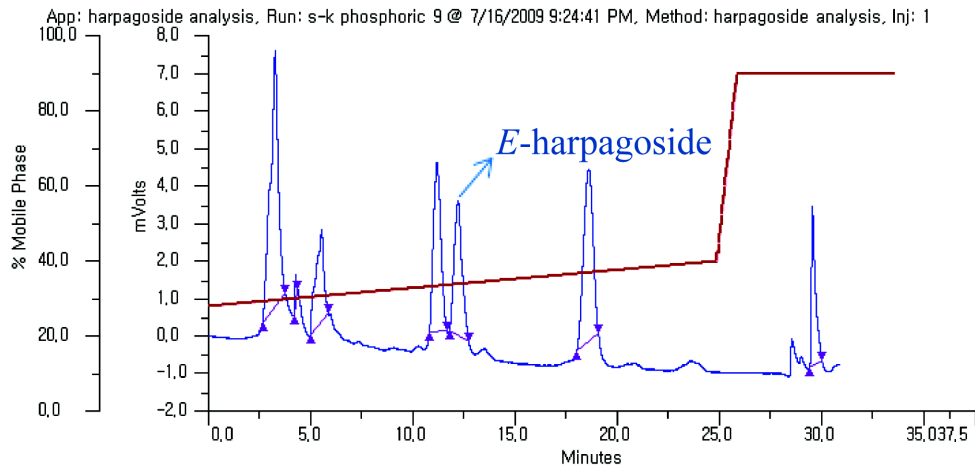


Fig. 3. HPLC chromatogram for the Scrophulariae Radix produced from Gyeongbuk

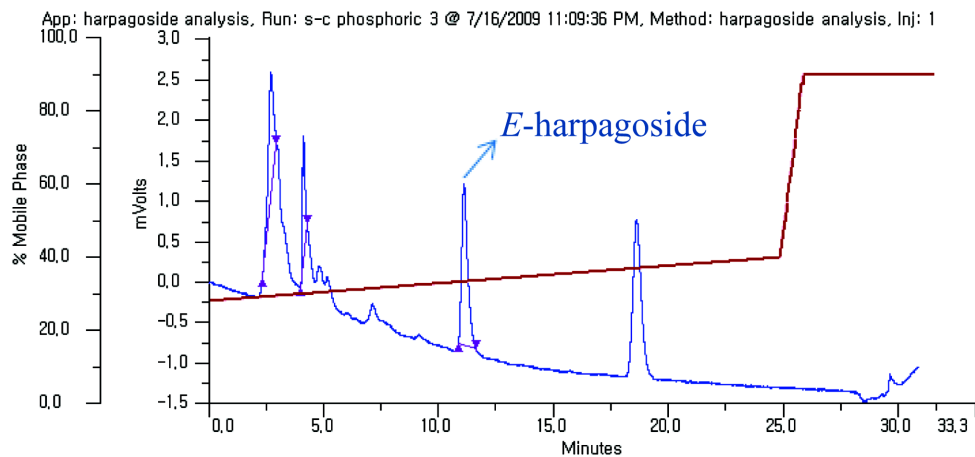


Fig. 4. HPLC chromatogram of the Scrophulariae Radix produced from China.

Table III. Content of *E*-harpagoside in Scrophulariae Radix

	Content of <i>E</i> -harpagoside			
	Mean (n=3, µg/ml)	Mean (n=3, mg/g)	Mean (n=3, %)	Mean ± SD (%)
경북산	59.204	0.592	0.059	0.068 ± 0.007
현삼	72.120	0.721	0.072	
	72.121	0.721	0.072	
중국산	18.351	0.184	0.018	0.023 ± 0.004
현삼	23.642	0.236	0.024	
	27.0421	0.270	0.027	

현삼 추출물의 경우도 50, 100, 200, 300, 500 µg/ml의 농도로 처리한 결과, 각각 24.74, 25.19, 22.57, 21.52, 16.77 µM의 NO 생성을 저해하는 것으로 나타났다. 특히, 약물농도 500 µg/ml에서는 경북산 현삼과 중국산 현삼의 추출물의 NO 생성 억제력은 대조군인 LPS 단독 처리군에 비하여 각각 55%와 35%로 두 약물 모두 NO 억제효과를 보였으며 같은 농도에서 경북산 현삼 추출물이 중국산 현삼 추출물보다

LPS에 의해 유도된 NO의 생성 억제효과가 뛰어남을 확인할 수 있었다 (Fig. 5).

결론

경북은 현재 전국 약용작물 수확면적 비중은 20.7%로 전국의 2위를 차지하고 있으며, 특히 약용작물 생산량은 13,440 톤으로 전국 1위를 지키고 있다.²⁵⁾ 경북에서의 약용작물 생산은 대부분 산악지대를 중심으로 재배되고 있고 일교차가 크며 중간 산 지역에 잘 적응하는 특성으로 인하여 전국 약용작물 생산의 주산지를 형성하고 있다. 한편, 약용자원에 대한 수요가 급증하면서 약용식물의 재배도 한동안 증가하는 추세로 나타났지만, 1990년대 후반부터 상대적으로 값이 저렴한 수입 한약재들이 급속히 유입되어 국내의 약용자원(작물) 생산이 경쟁력을 잃고 있다.²⁶⁾

이에 본 연구에서는 경북산 현삼의 경쟁력 제고를 위하여 경북산 현삼과 중국산 현삼에 대한 화학적(지표성분 함량), 생물학적(NO 생성 저해활성) 품질평가를 실시하였다. 현삼

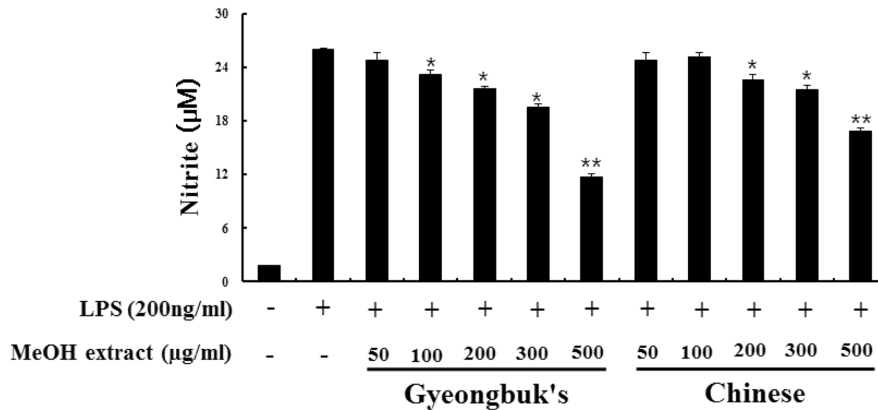


Fig. 5. Inhibitory Effect of the Scrophulariae Radix produced from Gyeongbuk and China on LPS-induced NO production in RAW 264.7 macrophage cells. *P < 0.05 and **P < 0.01 by student's t-test.

의 주성분인 *E-harpagoside*는 NF- κ B 활성을 저해함으로써 iNOS와 COX-2 발현을 억제하여 항염증작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.²⁷⁾ 지표성분에 대한 함량분석 결과, 경북산 현삼은 중국산 현삼에 비해 활성 주성분인 *E-harpagoside*의 함량이 약 3배 높은 것으로 나타났으므로, 경북산 현삼이 중국산 현삼보다 우수한 항염증효과를 나타낼 것으로 사료된다. 이를 뒷받침하기 위하여 두 종류의 현삼에 대한 생물학적 품질평가를 실시한 결과, 경북산 현삼이 중국산 현삼보다 염증매개물질인 NO 생성을 효율적으로 저해하는 것으로 나타났다 (Fig. 5). 이러한 결과는 *E-harpagoside*의 함량과 NO의 생성 저해효과는 비례적 상관관계를 가지며, *E-harpagoside*를 상대적으로 많이 함유하고 있는 경북산 현삼이 중국산 현삼보다 단위 그램당 우수한 NO 생성 억제효과를 갖는다는 것을 증명한다. 현삼 추출물 및 성분에 대한 다양한 생리활성이 입증되면서 현삼을 이용한 천연물신약, 건강기능성식품, 기능성화장품 등 다양한 제품 개발이 이루어지고 있다. 본 연구결과, 경북산 현삼은 이화학적 품질뿐만 아니라 생물학적 품질도 높은 것으로 나타났으므로, 경북산 현삼을 이용한 신규 제품개발, 산업화 등이 기대된다.

사 사

본 연구는 경상북도 안동시 연구개발사업에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 식품의약품안전청 (2008) 대한약전의한약(생약)규격집 제8 개정, 460. 서울.
- 국가약전위원회 (2005) 중화인민공화국약전, 76-77. 화학공업출판사, 북경.
- 우미희 (1989) 玄蓼의 成分에 關한 研究. 曉星基科集 3: 129-144.
- 전국한외과대학본초학교수 공편저 (2000) 본초학, 192-193. 영림사, 서울.
- 생약학교재편찬위원회 (2006) 생약학, 208. 동명사, 서울.
- 이영중, 안덕균 (1986) 현삼의 기원과 효능에 관한 고찰. 대한한외과학회 본초분과학회지 1: 63-72.
- 박규하, 함인혜, 최호영 (2008) 현삼의 유전자 분석 및 자발성고혈압흰쥐의 혈압에 미치는 영향. 대한본초학회지 23: 213-223.
- 황원상, 김민주, 오수진, 박성훈, 강홍준, 김재현, 이관용, 홍수희, 신현경, 원무호, 서준교, 오양석, 김종일, 김재봉, 박재봉, 이재용 (2006) 현삼(*Scrophularia koraiensis* Nakai)의 항노화 활성. 한국노화학회지 16: 37-46.
- 한방 약리학 교재편찬위원회 (2005) 한방 약리학, 693-695, 신일상사, 서울.
- Li, Y. M., Jiang, S. H., Gao, W. Y. and Zhu, D. Y. (1999) Iridoid glycosides from *Scrophularia ningpoensis*. *Phytochemistry* 50: 101-104.
- 이혜원, 박소영, 추병길, 천진미, 이아영, 김호경 (2007) 국산과 중국산 현삼의 성분함량. 생약학회지 38: 15-18.
- Kim, S. R., Lee, K. Y., Koo, K. A., Sung, S. H., Lee, N. G., Kim, J. and Kim, Y. C. (2002) Four new neuroprotective iridoid glycosides from *Scrophularia buergeriana* Roots. *J. Nat. Prod.* 65: 1696-1699.
- Kim, S. R. and Kim, Y. C. (2000) Neuroprotective phenylpropanoid esters of rhamnose isolated from roots of *Scrophularia buergeriana*. *Phytochemistry* 54: 503-509.
- Kim, S. R., Kang, S. Y., Lee, K. Y., Kim, S. H., Markelonis, G. J., Oh, T. H. and Kim, Y. C. (2003) Anti-amnesic activity of *E-p*-methoxycinnamic acid from *Scrophularia buergeriana*. *Cognitive Brain Research* 17: 454-461.
- Kim, S. R., Sung, S. H., Jang, Y. P., Markelonis, G. J., Oh, T. H. and Kim, Y. C. (2002) *E-p*-Methoxycinnamic acid protects cultured neuronal cells against neurotoxicity induced by glutamate. *Br. J. Pharmacol.* 135: 1281-1291.
- 박용기, 강병수 (1998) 현삼의 항산화 작용에 관한 연구. 대한본초학회지 13: 201-220.

17. Xu, C., Luo, L. and Tan, R. X. (2004) Antidepressant effect of three traditional Chinese medicines in the learned helplessness model. *J. Ethnopharmacol.* **91**: 345-349.
 18. Diaz, A. M., Abad, M. J., Fernandez, L., Silván, A. M., De Santos, J. and Bermejo, P. (2004) Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia*: in vitro anti-inflammatory activity. *Life Sci.* **74**: 2515-2526.
 19. Ahmed, B., Al-Rehaily, A. J., Al-Howiriny, T. A., El-Sayed, K. A. and Ahmad, M. S. (2003) Scropolioside-D2 and harpagoside-B: two new iridoid glycosides and antiinflammatory activity. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 462-467.
 20. Lee, E. J., Kim, S. R., Kim, J. and Kim Y. C. (2002) Hepatoprotective Phenylpropanoids from *Scrophularia buergeriana* roots against CCl₄-Induced toxicity: Action mechanism and structure-activity relationship. *Planta Med.* **68**: 407-411.
 21. Tohda, C., Kakiyama, Y., Komatsu, K. and Kuraishi, Y. (2000) Inhibitory effects of methanol extracts of herbal medicines on substance P-induced itch-scratch response. *Biol. Pharm. Bull.* **23**: 599-601.
 22. 변성희, 양재하, 김상찬 (2005) 현삼메탄올 추출물이 LPS로 유도된 Raw 264.7 cell에서의 TNF- α , IL 2 β , IL 6 및 nitric oxide 생성에 미치는 영향. *대한분초학회지* **20**: 7-16.
 23. 농산물유통국 채소특작과 (2006) 경북지역 한약재 현황.
 24. 농산물유통국 채소특작과 (2006) 국내 한약재 생산현황.
 25. 대구경북한방산업진흥원 (2007) 대구경북한방산업진흥원 보고서.
 26. 한국의약품수출입협회 (2005) 한약재수출입현황.
 27. Huang, T. H., Tran, V. H., Duke, R. K., Tan, S., Chrubasik, S., Roufogalis, B. D. and Duke, C. C. (2006) Harpagoside suppresses lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 expression through inhibition of NF- κ B activation. *J. Ethnopharmacol.* **104**: 149-155.
- (2010. 11. 25 접수; 2011. 1. 20 심사; 2011. 1. 20 게재확정)