

4종 창포류의 성분 패턴 및 항산화 효능 비교

최고야¹, 고병섭¹, 이미영¹, 채성욱¹, 김영화¹, 육진아¹, 백지성², 이해원^{1*}

1 : 한국한의학연구원 창의연구실, 2 : 우석대학교 한의과대학 본초방제학교실

Comparative Study of Changpo(Chāngpú) species on Antioxidant Activity and HPLC Pattern Analysis

Goya Choi¹, Byoung-seob Ko¹, Mi-young Lee¹, Sung-wook Chae¹, Young-hwa Kim¹,
Jin-ah Ryuk¹, Ji-seong Baek², Hye-won Lee^{1*}

1 : Creative Research Team, Korea Institute of Oriental Medicine

2 : Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

ABSTRACT

Objective : This study was to compare antioxidant activity and HPLC pattern analysis from 4 species of changpo(chāngpú).

Methods : To compare the antioxidant activity and HPLC pattern analysis from the 4 species of changpo, we performed the *in vitro* anti-oxidative activity assays and HPLC analysis from 70% ethanol extracts of *Acorus gramineus* Sol. (=AG), *A. tatarinowii* Schott (=AT), *A. calamus* L. (=AC) and *Anemone altaica* Fisch. ex C.A.Mey (=AA) taken in the herbal medicine market of Korea.

Results : AG has the most effective anti-oxidative activity among 4 species of changpo. As the HPLC pattern analysis, AT was detected the unknown peak at retention time 14.9 min whereas AG was not showed any peak at the same retention time. These results suggest that AG could be used rather than AT when it need to be prescribed as anti-oxidative medicine.

Conclusions : This result can be used as the basic data contributing to the stability of AG according to an appropriate clinical application.

Key words : changpo(chāngpú), *Acorus gramineus*, *Acorus tatarinowii*, antioxidant activity, HPLC pattern analysis

서론

石菖蒲(Acori Rhizoma)는 開竅藥에 속한 본초로서¹⁾, 그 기원종은 한국과 중국이 차이를 보이는데, 한국(대한약전외한약규격집)은 천남성과(Araceae)^{1,2,3,4,5)} 또는 창포과(Acoraceae)⁶⁾ 식물 석창포(*Acorus gramineus* Sol. ; 중국명 '金錢蒲'^{3,5)}의 뿌리줄기⁴⁾, 중국(中華人民共和國藥典)은 같은 과에 속하는 중국석창포(*Acorus tatarinowii* Schott ; 중국명 '石菖蒲'³⁾의 뿌리줄기^{5,7,8)} 각기 石菖蒲의 기원종으로 규정하고 있다⁹⁾. 최근 들어서는 두 종을 同種으로 파악하는 경우⁶⁾도 있으나, 일반적으로 석창포와 중국석창포는 異種

으로 인식되고 있다. 한편, 한약재 유통과정에서 석창포와 同屬種이며 한약명이 '水菖蒲' 인⁵⁾ 창포(*Acorus calamus* L. ; 중국명 '菖蒲'³⁾)가 유사종으로 유통되기도 하며, 미나리아재비과(Ranunculaceae) 식물 알타이아네모네(*Anemone altaica* Fisch. ex C.A.Mey. ; 중국명 '阿爾泰銀蓮花'^{10,11)})가 '九節菖蒲' 라는 이름으로 불리면서 石菖蒲의 고급품으로 오인되어 유통되고 있는 실정이다^{2,10,12)}. 이와 같이 기원상 차이가 있는 네 가지 식물의 뿌리줄기가 '菖蒲' 라는 이름으로 쓰임에 따라, 각각의 기원종을 감별하고자 하는 연구가 다방면으로 이루어져 왔다^{13,14,15,16)}.

石菖蒲의 성분에 대해서는 정유성분에 대한 연구가 주로

*Corresponding author : Hyewon Lee, Korea Institute of Oriental Medicine(KIOM), 461-24 Jeonmin-dong, Yusung-gu, Daejeon 305-811, South Korea.

· Tel : +82-42-868-9506. · Fax : +82-42-868-9301. · E-mail : hwlee@kiom.re.kr.

· 접수 : 2011년 2월 14일 · 수정 : 2011년 3월 3일 · 채택 : 2011년 3월 10일

이루어졌다. 石菖蒲 정유의 주요 성분은 β -asarone¹⁷⁾과 α -asarone이 있으며^{18,19)}, 이밖에 estragole, camphene, l-borneol, β -elemene, methyl eugenol, germacrene-B 등¹⁹⁾이 함유되어 있음이 보고되었다.

石菖蒲의 약리작용에 대해서는 뇌 보호 및 인지기능을 개선시키는 작용이 있다는 연구사례가 많은데, 이는 石菖蒲의 한의학적인 응용에서 주로 遠志 등과 함께 기억력 개선의 목적으로 사용되어온 것과 부합한다. 현대적 연구에서 石菖蒲 추출물은 동맥폐색 등으로 뇌손상을 일으킨 동물모델에서 뇌 세포의 손상을 억제하고^{20,21,22,23,24,25)}, 실험동물의 학습 기억력을 높이며^{22,25,26)}, 주된 활성물질 중 하나인 β -asarone의 단독 투여에서도 같은 경향²⁷⁾을 나타냄이 보고된 바 있다. 이러한 효능은 石菖蒲 추출물이 뇌세포의 손상을 유발하는 산화적 스트레스에 대해 항산화 작용을 하기 때문으로 알려져 있으며^{22,23,24)}, 주된 활성물질 중 하나인 α -asarone도 항산화 효능을 갖고 있음이 밝혀졌다²⁸⁾.

이와 같이, 石菖蒲는 한약재 중 우수한 약리효능을 나타냄에도 불구하고 기원상의 혼란이 현재까지 완벽히 정립되어 있지 않으며, 기존의 연구에서도 기원종간의 성분 및 효능에 관한 비교연구가 보고된 바 없다. 따라서 정확한 기원종 사용을 통하여 일정한 유효성을 규명하기 위해 본 연구에서는 국내외에서 유통되는 菖蒲類 4 종 8 점을 수집하여 형태학적으로 동정을 한 뒤, 중별 성분학적 패턴 및 효능 차이를 비교하였다. 효능 평가 방법으로는 石菖蒲의 뇌신경세포 보호 기전 중 하나인 항산화 효능을 *in vitro*에서 평가하였다. 이를 통해 창포류의 중별 성분 패턴과 효능 차이를 일정 부분 파악할 수 있었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용된 한약재는 중국산 石菖蒲 3 점(AT1, AT2 및 AG3), 한국산 石菖蒲 2 점(AG1, AG2), 水菖蒲 1 점(AC1) 및 九節菖蒲 2 점(AA1, AA2) 등 총 8 점을 제약회사에서 규격 포장한 전형 또는 절단한약으로 구입하여 우석대학교 한의과대학 본초방제학교실에서 감정한 뒤 정선하여 실험에 사용하였다.

- ①형성층이 명확하다.
 - ②유관속초점유가 발달되었다.
 - ③중주유관속이 뾰뾰하며 치밀한 환상을 이룬다.

..... *Acorus gramineus*
 - ③중주유관속이 드물고 엉성한 환상을 이룬다.

..... *Acorus tatarinowii*
 - ②유관속초점유가 발달되지 않았다. *Acorus calamus*
- ①형성층이 명확하지 않다. *Anemone altaica*

위의 검색표¹³⁾에 의한 형태학적 감정 결과 시료 AG1, AG2 및 AG3은 석창포(*Acorus gramineus*, 이하 AG), AT1과 AT2는 중국석창포(*A. tatarinowii*, 이하 AT), AC1은 창포(*A. calamus*, 이하 AC), 그리고 AA1과 AA2는 알타이아

네모네(*Anemone altaica*, 이하 AA)로 확인되었다(Table 1).

Table 1. Sample list for raw herbal materials used in this study

Herbal Name	Acronym	Origin	Vouchers No.
石菖蒲 (<i>Acori Graminei</i> Rhizoma)	AG	Korea(Jeju)	AG1
		Korea(Jeju)	AG2
		China	AG3
石菖蒲 (<i>Acori Tatarinowii</i> Rhizoma)	AT	China(Dabieshan)	AT1
		China(Anhui)	AT2
水菖蒲 (<i>Acori Calami</i> Rhizoma)	AC	China	AC1
九節菖蒲 (<i>Anemonis Altaicae</i> Rhizoma)	AA	China(Shanxi)	AA1
		China	AA2

2. 시약 및 기기

시료 분석에 사용한 β -asarone, α -asarone, ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine 및 trolox는 Sigma-Aldrich사(USA)에서, 메탄올, 에탄올, 아세트산 및 아세토니트릴은 J.T.Baker사(USA)의 HPLC grade를 사용하였으며 기타 시약은 특급 이상의 제품을 사용하였다.

시료 추출을 위해 사용한 초음파추출기는 Branson 8510(Branson Ultrasonics Corporation, USA), 항산화 효능 측정을 위한 흡광도측정기는 Spectra Max 340(Molecular Devices, USA)를 사용하였다. 성분패턴 분석에 사용한 HPLC system은 Shimadzu사(Japan)의 UFLC series로, Autosampler SIL-20A, Binary pump LC-20AD, UV detector SPD-10A, Column oven CTO-20A, Degasser DGU-20As를 사용하였으며, 소프트웨어는 LC solution(Shimadzu, Japan)으로 구성하여 사용하였다.

3. 추출물 및 표준용액의 제조

기원종별로 구입한 石菖蒲 분말 약 1.5 g에 20 배량(30.0 mL)의 70% 에탄올을 가하고, 때때로 흔들며 섞어주면서 초음파추출기로 2 시간동안 초음파 추출하였다. 추출액을 여과지(150 mm 2 호, Whatman, UK)로 여과한 뒤 PVDF 0.45 μ m syringe membrane filter로 한 번 더 여과한 후, 이 액을 원료 약재 환산농도가 50 mg/mL이 되도록 시료를 제조하였으며, 최종 농도가 500, 250, 125, 50, 25 및 12.5 μ g/mL가 되도록 희석하여 4°C에 냉장보관하며 실험에 사용하였다. 성분 분석을 위한 β -asarone과 α -asarone 표준용액은 메탄올에 희석하여 각각 1.28, 1.41 mg/mL 농도로 제조한 후 냉장 보관하여 분석 전에 working 농도에서 메탄올로 계열 희석하여 사용하였다.

4. HPLC 패턴 분석조건

石菖蒲의 주요성분으로 알려진 β -asarone과 α -asarone

을 분석하기 위하여 동시에 분석 가능한 HPLC 분석조건을 설정하였다. HPLC 조건으로는 검출분석파장 UV 210 nm, 유속 0.7 mL/min, column은 Luna C₁₈(2)(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Phenomenex USA), 이동상은 0.1% 아세트산 물혼합액과 acetonitrile의 45:55(v/v) 혼합물을 사용하였다. 분석 시료는 원료 약재 환산 농도가 50 mg/mL가 되도록 조제한 후 각 10 μL씩 주입하여 분석하였다.

5. 항산화 효능 비교

1) ABTS 시험

시험법은 발색 변화를 이용한 항산화 효능 시험²⁹⁾을 변형하여 시험하였다. 5 mM 인산칼륨 완충액(pH 7.4)에 ABTS를 7 mM 농도로 녹이고, 여기에 2.45 mM 과황산칼륨(K₂S₂O₈)을 0.5 배량 가하고 실온에서 12 시간 이상 방치하여 암청색이 되도록 한다. 이 액에 인산칼륨 완충액을 가하여 734 nm의 흡광도가 1.0±0.02가 되도록 희석한 것을 ABTS 시액으로 사용하였다. 양성대조군은 Trolox를 에탄올에 최종 농도 62.5 μM로 희석하여 사용하였다.

농도별로 준비한 추출물 또는 양성대조액을 20 μL 가한 뒤, ABTS 시액 180 μL를 각 혈에 가하고 실온에서 5 분간 방치한 뒤 734 nm 흡광도를 측정하였다. 시험은 3회 반복하였으며, 인산칼륨 완충액의 흡광도치를 영점으로 하고 라디칼 소거능을 백분율로 환산하였다.

2) DPPH 시험

시험법은 발색 변화를 이용한 항산화 효능 시험³⁰⁾을 변형하여 시험하였다. 에탄올에 DPPH를 200 μM 농도로 녹인 것을 DPPH 시액으로 사용하였다. 양성대조군은 Trolox를 에탄올에 최종농도 62.5 μM로 희석하여 사용하였다.

농도별로 준비한 추출물 또는 양성대조액을 20 μL 가한 뒤, DPPH 시액 180 μL를 각 혈에 가하고 실온에서 30 분간 방치한 뒤 515 nm 흡광도를 측정하였다. 시험은 3회 반복하였으며, 에탄올의 흡광도치를 영점으로 하고 라디칼 소거능을 백분율로 환산하였다.

3) FRAP 시험

시험법은 ferric reducing/antioxidant power(FRAP) 시험³¹⁾을 변형하여 시험하였다. 아세트산에 아세트산나트륨 삼수화물(C₂H₃NaO₂·3H₂O)을 300 mM 농도로 녹인 액(pH 3.6) 25 mL, 40 mM 염산에 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine을 10 mM 농도로 녹인 액 2.5 mL, 증류수에 염화제이철 육수화물(FeCl₃·6H₂O)을 20 mM 농도로 녹인 액 2.5 mL를 매 시험 직전에 혼합한 것을 FRAP 시액으로 사용하였다. 양성대조군은 Trolox를 에탄올에 최종농도 62.5 μM로 희석하여 사용하였다.

농도별로 준비한 추출물, 기준액 및 대조액 20 μL를 각각 가한 뒤, FRAP 시액 180 μL를 각 혈에 가하고 실온에서 30 분간 방치한 뒤 595 nm 흡광도를 측정하였다. 시험은 3회 반복하였으며, 에탄올의 흡광도치를 영점으로 하고 환원능을 백분율로 환산하였다.

6. 통계처리 방법

결과값의 표기는 '평균(mean)±표준편차(SD)'로 표시하였다. 실험군의 유의성 검증은 일원분산분석(one-way ANOVA) 및 독립표본 *t*-test를 실시하여 대조군에 대해 *P* < 0.05 인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 4종 창포류의 HPLC 패턴 비교 결과

石菖蒲의 주요 성분인 β-asarone과 α-asarone을 동시에 분석할 수 있는 HPLC 분석 조건을 설정하여 창포류 4종 8점의 70% 에탄올 추출물 HPLC 분석 결과 석창포의 구성성분으로 알려진 β-asarone과 α-asarone 표준용액의 머무름시간(retention time, RT)은 각각 14.2 분과 15.6 분에서 peak를 확인할 수 있었다(Fig. 1).

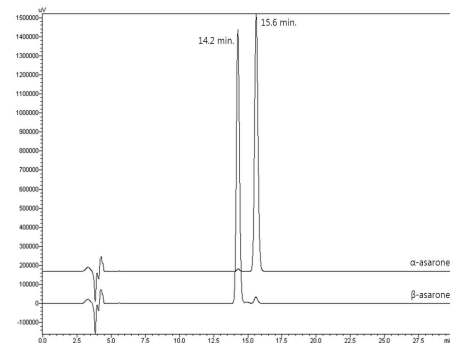


Fig. 1. Chromatograms of α-asarone and β-asarone standard. Retention time of α-asarone is 15.6 min, and β-asarone is 14.2 min.

시료 AA를 제외한 AG, AT, AC 모든 시료에서 머무름시간 약 14.2 분에서 표준용액 β-asarone과 머무름시간이 일치하는 peak가 검출되었으며(Fig. 2), 시료 중 β-asarone은 AG와 AT에서는 0.185~0.240%, AC에서는 0.025%의 함량을 나타내었으나, AA에서는 불검출되었다. 한편 α-asarone은 AG1과 AG2에서 각각 0.003%와 0.004%, AC1에서 0.001%로 미량 함유된 것으로 나타났으며, 나머지 시료에서는 검출되지 않았다(Table 2).

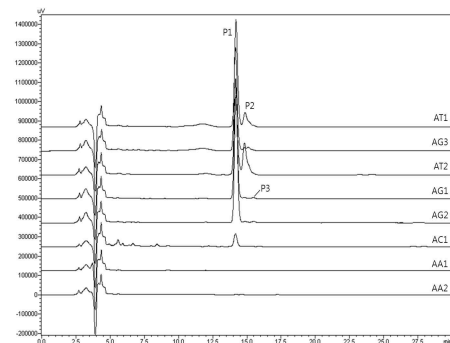


Fig. 2. Chromatograms of 70% ethanol extracts of changpo. P1: Peak of β-asarone, retention time 14.2 min, P2: Unknown compound, retention time 14.9 min, P3: Peak of α-asarone, retention time 15.6 min.

Table 2. Contents of β -asarone and α -asarone in 70% ethanol extracts from Changpo(mg/1.5g)

No.	β -asarone		α -asarone	
	Content(mg)	Percentage	Content(mg)	Percentage
AG1	3.387	0.226	0.049	0.003
AG2	3.601	0.240	0.054	0.004
AG3	2.967	0.198	ND	-
AT1	3.096	0.206	ND	-
AT2	2.769	0.185	ND	-
AC1	0.378	0.025	0.007	0.001
AA1	ND	-	ND	-
AA2	ND	-	ND	-

AG1~3: Acori Graminei Rhizoma
 AT1~2: Acori Tatarinowii Rhizoma
 AC1: Acori Calami Rhizoma
 AA1~2: Anemonis Altaicae Rhizoma
 * ND: Not detected

시료 AG와 AT의 HPLC 패턴은 유사한 경향을 나타내었으나, 시료 AT에서는 머무름시간 약 14.9분에 AG에서는 검출되지 않은 peak를 확인 할 수 있었다. 이 peak는 β -asarone이나 α -asarone과 머무름시간이 일치하지 않았고 AT 시료에서만 검출되었으므로, 석창포와 중국석창포의 이화학적 감별에 활용될 수 있을 것으로 보인다. 시료 AC는 머무름시간 14.2분의 β -asarone peak가 검출되었으나 AG 및 AT 시료와는 다른 HPLC 패턴을 확인 할 수 있었으며, 시료 AA에서는 β -asarone, α -asarone 및 다른 어떤 peak도 검출되지 않았다(Fig. 2).

2. 항산화 효능 비교 결과

ABTS 라디칼 소거능을 통해 항산화 효능을 측정된 결과, 최종농도 12.5 μ g/mL 이상에서 모든 시료가 농도의존적인 항산화 활성을 나타냈다. 특히 최종농도 125 μ g/mL일 때 AG는 92.47 \pm 0.14%, AC는 82.12 \pm 1.75%, AT는 70.91 \pm 2.46%, AA는 46.76 \pm 7.26%의 효능을 보였으며, AG는 AC, AT 및 AA 모두에 비해 유의하게 높은 효능을 보였고($P < 0.005$), AC는 AT와 AA에 비해, AT는 AA에 비해 각각 유의하게 높은 효능을 나타냈다($P < 0.005$, Table 3 및 Fig. 3). 양성대조군인 Trolox(최종 농도 62.5 μ M)의 ABTS 라디칼 소거능은 96.04 \pm 0.06%였다.

Table 3. Antioxidant activities of 70% ethanol extracts

Sample	Concentration (μ g/mL)	ABTS Activity (%)	DPPH Activity (%)	FRAP Activity (%)
AG	500	99.59 \pm 0.01*	74.68 \pm 5.32*	86.79 \pm 1.78*
	250	99.85 \pm 0.04*	60.75 \pm 3.13*	80.32 \pm 2.11*
	125	92.47\pm0.14*	41.79\pm3.44*	69.40\pm3.40*
	50	51.41 \pm 0.71*	24.50 \pm 3.27*	49.46 \pm 3.21*
	25	30.71 \pm 1.63*	17.65 \pm 3.06*	32.68 \pm 3.49*
AT	12.5	17.07 \pm 0.96*	14.25 \pm 2.64*	16.51 \pm 2.97*
	500	99.56 \pm 0.10*	57.20 \pm 3.13*	75.30 \pm 0.32*
	250	96.71 \pm 0.99*	38.82 \pm 1.24*	63.10 \pm 0.44*
	125	70.91\pm2.46*	25.83\pm0.82*	48.50\pm0.22*
	50	38.40 \pm 1.02*	15.25 \pm 0.04*	26.11 \pm 0.90*
AC	25	22.17 \pm 0.94*	11.69 \pm 0.08*	13.52 \pm 0.92*
	12.5	11.62 \pm 1.05*	10.12 \pm 0.02*	3.21 \pm 0.58*
	500	98.87 \pm 0.29*	63.29 \pm 0.30*	78.09 \pm 0.46*
	250	99.78 \pm 0.06*	47.86 \pm 1.25*	68.49 \pm 0.55*
	125	82.12\pm1.75*	34.34\pm2.15*	54.07\pm0.36*
AA	50	37.62 \pm 1.64*	23.55 \pm 2.03*	32.28 \pm 1.38*
	25	18.39 \pm 1.03*	18.99 \pm 1.43*	17.24 \pm 1.57*
	12.5	8.81 \pm 1.10*	17.10 \pm 1.49*	5.63 \pm 1.93*
	500	98.16 \pm 2.14*	46.36 \pm 17.48*	59.36 \pm 9.23*
	250	77.51 \pm 10.63*	31.78 \pm 10.81*	43.36 \pm 9.58*
Trolox	125	46.76\pm7.26*	23.09\pm6.45*	26.48\pm8.78*
	50	19.41 \pm 3.76*	16.37 \pm 3.39*	9.61 \pm 5.59*
	25	8.98 \pm 1.73*	13.92 \pm 2.29*	NA†
	12.5	3.70 \pm 0.95*	12.62 \pm 1.78*	NA†
Trolox	62.5 μ M	96.04 \pm 0.06*	93.03 \pm 0.05*	94.80 \pm 0.05*

AG: Acori Graminei Rhizoma(n=3)
 AT: Acori Tatarinowii Rhizoma(n=2)
 AC: Acori Calami Rhizoma(n=1)
 AA: Anemonis Altaicae Rhizoma(n=2)
 *, $P < 0.05$; † NA: No activity

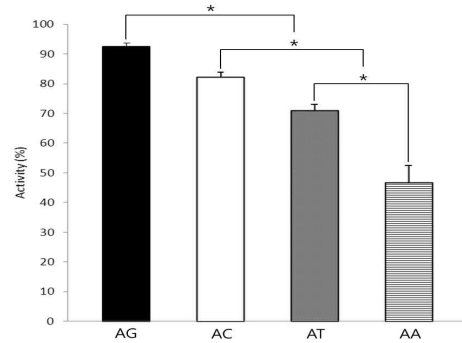


Fig. 3. ABTS radical scavenging activities(final concentration is 125 μ g/mL). AG is Acori Graminei Rhizoma, AC is Acori Calami Rhizoma, AT is Acori Tatarinowii Rhizoma, AA is Anemonis Altaicae Rhizoma. *, $P < 0.05$

DPPH 라디칼 소거능을 통해 항산화 효능을 측정된 결과, 최종농도 25 μ g/mL 이상에서 모든 시료가 농도의존적인 항산화 활성을 나타냈다. 특히 최종농도 500 μ g/mL일 때 AG는 74.68 \pm 5.32%, AC는 63.29 \pm 0.30%, AT는 57.20 \pm 3.13%, AA는 46.36 \pm 17.48%의 효능을 보였으며, AG는 AC, AT 및 AA에 비해 유의하게 높은 효능을 보였고($P < 0.05$), AC는 AT에 비해 유의하게 높은 효능을 보였다($P < 0.05$). AC와 AA, AT와 AA 간에는 유의한 차이가 없었다(Table 3 및 Fig. 4). 양성대조군인 Trolox(최종 농도 62.5 μ M)의 라디칼 소거능은 93.03 \pm 0.05%였다.

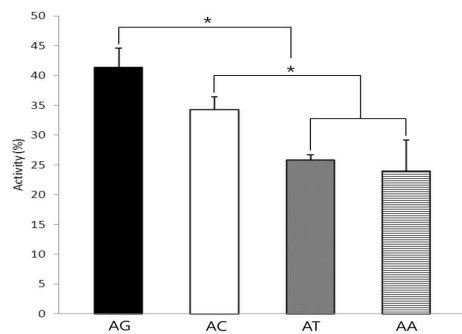


Fig. 4. DPPH radical scavenging activities(final concentration is 125 μ g/mL). AG is Acori Graminei Rhizoma, AC is Acori Calami Rhizoma, AT is Acori Tatarinowii Rhizoma, AA is Anemonis Altaicae Rhizoma. *, $P < 0.05$

FRAP 시험을 통해 환원능을 측정된 결과, 최종농도 50 μ g/mL 이상에서 모든 시료가 농도의존적인 환원능을 나타냈다. 특히 최종농도 125 μ g/mL일 때 AG는 69.40 \pm 3.40%, AC는 54.07 \pm 0.36%, AT는 48.50 \pm 0.22%, AA는 26.48 \pm 8.78%의 효능을 보였으며, AG는 AC, AT 및 AA 모두에 비해, AC는 AT와 AA에 비해, AT는 AA에 비해 유의하게 높은 활성을 보였다($P < 0.05$, Table 4 및 Fig. 5). 양성대조군인 Trolox(최종 농도 62.5 μ M)의 환원능은 평균 94.80 \pm 0.05%였다.

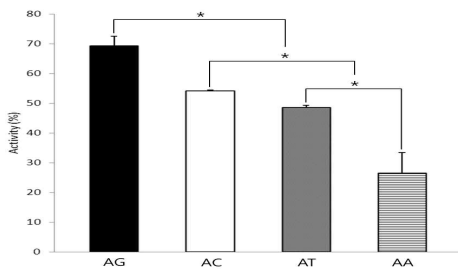


Fig. 5. FRAP activities(final concentration is 125 μ g/mL). AG is *Acori Graminei Rhizoma*, AC is *Acori Calami Rhizoma*, AT is *Acori Tatarinowii Rhizoma*, AA is *Anemonis Altaicae Rhizoma*. *, $P < 0.05$

고찰

石菖蒲는 開竅藥에 속한 본초로서 氣味는 溫(또는 微溫³²⁾), 辛苦(또는 辛³²⁾), 無毒하고, 心·胃·肝·脾³³⁾로 歸經하며, 化痰開竅, 化濕行氣, 祛風利痺, 消腫止痛, 化濕開胃, 開竅豁痰, 醒神益智하는 효능이 있어 熱病神昏, 神昏癱瘓, 痰厥, 健忘, 耳鳴·耳聾, 心痛·脘腹脹痛, 脘痞不飢, 噤口下痢, 風濕痺痛, 跌打損傷, 癰疽疥癬 등을 치료하는 데 활용된다^{1,2)}.

시중에 유통되는 石菖蒲는 《대한약전의한약규격집》에서 정하고 있는 석창포(*Acorus gramineus*)⁴⁾, 《中華人民共和國藥典》에서 정하고 있는 중국석창포(*Acorus tatarinowii*)⁸⁾ 및 유사품인 창포(*Acorus calamus*)와 알타이아네모네(*Anemone altaica*) 등 4 종류가 있어 혼란을 유발한다^{12,13)}.

이러한 혼란은 고문헌에서도 확인할 수 있는데, 일찍이 李時珍은 《本草綱目》에서 菖蒲에는 생육환경과 형태에 따라 泥菖蒲, 水菖蒲, 石菖蒲 등 다섯 가지 종류가 있으며, 이 중 石菖蒲를 제외한 나머지 종류는 약용으로 쓸 수 없다고 주장한 바 있다³⁴⁾. 특히, ‘一寸九節者’의 약효가 가장 뛰어나다는 기록³⁴⁾에 따라 예로부터 마디가 조밀한 石菖蒲를 고급품으로 인식하였으나, 근현대에 이르러 알타이아네모네(*Anemone altaica*)가 ‘九節菖蒲’라는 이름으로 불리기 시작하면서 마치 石菖蒲의 고급품인 것처럼 오인되고 있다. 이는 기원이 전혀 다르므로 명백한 오용임에도 불구하고 한약재 시장에서 여전히 유통되고 있는 실정이다.

기존의 연구^{13,14,15,16)}에서 이들 창포류를 서로 감별해내는 작업은 일부 진행되었으나, 이들 종별의 효능 차이는 비교 연구된 바가 없다. 본 실험에서는 국내의 유통 창포류 4 종 8 점을 수집하여 종별 성분의 HPLC 패턴 차이와 *in vitro* 항산화 효능을 비교하였다.

성분 패턴 비교를 위해 HPLC를 이용한 β -asarone과 α -asarone의 정량 및 크로마토그램 패턴 비교를 통해 감별점을 모색하였다. β -asarone과 α -asarone은 창포속(*Acorus*) 식물의 정유 중 주요 성분으로 알려져 있으므로, 본 연구에서는 이 두 가지 성분을 표준품으로 설정하였다.

β -asarone의 경우 공정서 수재품인 AG와 AT는 평균 0.211%, 동속근연종인 AC는 0.025% 함유된 데 반해, 분류학적으로 거리가 먼 AA는 검출되지 않았다. 한편 α -asarone은 비정품인 AA뿐 아니라 정품인 AG3, AT1 및 AT2에서도 검출되지 않았으며, 함량이 확인된 AC1, AG1 및 AG2에서도 0.001~0.004%로 매우 낮은 함량을 보였다

(Table 2). 기체크로마토그래피(GC)를 이용한 기존의 연구에서는 石菖蒲의 β -asarone 함량이 0.705~1.530%, α -asarone 함량이 0.035~0.258%인 것으로 보고되었으나¹⁸⁾, HPLC를 이용한 본 연구에서는 β -asarone 함량이 0.185~0.240%(AG 및 AT), α -asarone 함량이 0.003~0.004%(AG1 및 AG2)로 나타났다. 이와 같이 분석장비에 따라 나타나는 함량의 차이는 향후 분석방법 밸리데이션을 통하여 비교할 필요가 있는 것으로 사료된다.

전체적인 HPLC 패턴 비교에서는 의미있는 결과를 얻었는데, 石菖蒲에 비해 분류학적으로 거리가 있는 九節菖蒲(AA)는 β -asarone과 α -asarone이 검출되지 않아 창포속(*Acorus*) 시료(AG, AT 및 AC)와는 큰 차이를 나타내었고, 水菖蒲(AC) 또한 β -asarone의 peak가 나머지 창포속 시료(AG 및 AT)에 비해 매우 낮게 나타나 차이를 보였다. 한편 石菖蒲 중에서 석창포(AG)와 중국석창포(AT)는 머무름시간 약 14.9 분경에 나타나는 peak의 유무를 통해 확연히 구별되었다. 즉, AT에서는 머무름시간 14.9 분의 peak가 뚜렷하게 나타난 반면, AG에서는 분명하게 나타나지 않았다(Fig. 2). 이 미지물질의 peak는 표준품으로 사용한 β -asarone과 α -asarone의 머무름시간이 각각 약 14.2분과 15.6분인 것에 비추어 볼 때 두 성분과 유사한 구조를 지닌 성분일 가능성이 높으며, 향후 성분 동정을 통해 석창포와 중국석창포의 감별 마커로 활용할 수 있으리라 사료된다.

石菖蒲는 특히 遠志, 茯神 등과 함께 中風이나 癱瘓에 의한 健忘에 주로 활용되었다. 기존의 연구에 의하면, 石菖蒲물 추출물은 D-galactose로 급성 노쇠를 유발한 생쥐 모델에서 자유라디칼로 인한 손상을 줄이고 학습 기억력을 높이며 뇌 위축을 억제하고²²⁾, 정유와 수용성 성분 또한 자유라디칼을 제거하고 과산화물의 형성을 억제하여 일산화질소(NO)의 신경독성을 줄이고 뇌세포 보호작용을 한다²³⁾. 또한 水菖蒲³⁵⁾ 및 창포류의 주된 정유 성분인 β -asarone²⁷⁾과 α -asarone²⁸⁾도 항산화 활성이 보고된 바 있다. 즉, 창포류의 뇌신경 보호능은 항산화 활성과 밀접한 관련이 있다. 따라서 본 연구에서는 창포류 종별 효능의 차이를 비교하고자 항산화 효능 평가를 실시하였다. 효능 평가 방법으로는, 항산화 효능 스크리닝 방법으로 널리 쓰이는 ABTS, DPPH 및 FRAP 시험을 통해 *in vitro*에서 창포류 추출물의 항산화 활성을 비교하였다.

ABTS 시험 결과, 최종 농도 500 μ g/mL에서 모든 시료가 96% 이상의 라디칼 소거능을 보였다. 12.5 ~ 250 μ g/mL에서도 모든 시료가 농도의존적인 항산화 활성을 나타냈으며, 특히 九節菖蒲(AA)를 제외한 모든 시료는 250 μ g/mL에서도 96% 이상의 활성을 보였다. 각 시료의 활성 차이가 확연하게 나타난 125 μ g/mL에서 종별로 분석한 결과, 석창포가 92.49 \pm 1.16%의 소거능으로 가장 우수한 활성을 나타냈으며, 水菖蒲가 82.12 \pm 1.75%, 중국석창포가 70.91 \pm 2.22%, 九節菖蒲가 46.76 \pm 5.80%로 그 뒤를 이었다. 석창포는 水菖蒲, 중국석창포 및 九節菖蒲 모두에 대해 유의하게 높은 활성을 나타냈으며, 水菖蒲는 중국석창포와 九節菖蒲에 대해, 중국석창포는 九節菖蒲에 대해 각각 유의하게 높은 활성을 보였다(Table 3, Fig. 3).

DPPH 시험 결과, 최종 농도 25 μ g/mL 이상에서 농도의존적인 라디칼 소거능을 보였다. 각 시료의 활성 차이가 확연

하게 나타난 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 중별로 분석한 결과, 석창포가 74.68 \pm 5.67%의 소거능으로 가장 우수한 활성을 나타냈으며, 水菖蒲가 63.29 \pm 0.30%, 중국석창포가 57.2 \pm 2.73%, 九節菖蒲가 48.83 \pm 13.55%로 그 뒤를 이었다. 석창포는 水菖蒲, 중국석창포 및 九節菖蒲 모두에 대해 유의하게 높은 활성을 나타냈으며, 水菖蒲는 중국석창포에 대해 유의하게 높은 활성을 보였다. 九節菖蒲의 동종 시료간 편차가 커서 水菖蒲나 중국석창포와 유의한 차이를 보이지 못했다(Table 3, Fig. 4).

FRAP 시험 결과, 최종 농도 50 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서 농도의존적인 환원능을 보였다. 각 시료의 활성 차이가 확연하게 나타난 125 $\mu\text{g/mL}$ 에서 중별로 분석한 결과, 석창포가 69.4 \pm 2.99%의 환원능으로 가장 우수한 활성을 나타냈으며, 水菖蒲가 54.07 \pm 0.36%, 중국석창포가 48.5 \pm 0.83%, 九節菖蒲가 26.48 \pm 6.85%로 그 뒤를 이었다. 석창포는 水菖蒲, 중국석창포 및 九節菖蒲 모두에 대해 유의하게 높은 활성을 나타냈으며, 水菖蒲는 중국석창포와 九節菖蒲에 대해, 중국석창포는 九節菖蒲에 대해 유의하게 높은 활성을 보였다(Table 4, Fig. 5).

결론

기원상의 혼란이 있는 石菖蒲의 사용 기준 마련을 위해 국내·외 4 종의 창포류 8 점을 수집하여 형태학적 감별을 거친 뒤, HPLC 패턴 및 항산화 효능을 비교 분석한 결과는 다음과 같다.

석창포와 중국석창포 추출물의 HPLC 패턴을 비교한 결과, 중국석창포에서는 머무름시간 약 14.9 분경에 peak가 나타났으며, 석창포에서는 이 peak가 나타나지 않았다. 이는 향후 성분 동정을 통해 석창포와 중국석창포의 감별 marker로서 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

창포류 70% 에탄올 추출물의 *in vitro* 항산화 활성을 비교한 결과, ABTS, DPPH, FRAP 시험 모두에서 석창포, 水菖蒲, 중국석창포, 九節菖蒲 순으로 일관된 활성을 보였다. 특히 모든 시험에서 석창포가 중국석창포에 비해 뚜렷하게 높은 활성을 보여, 항산화 효능을 목적으로 할 경우에는 중국석창포보다 석창포를 사용하는 것이 합당한 것으로 사료된다. 또한 비정품인 九節菖蒲의 경우 낮은 활성을 나타내므로 오용하지 않도록 주의하여야 하며, 水菖蒲의 경우 약용가치를 재조명할 필요성이 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 '창의적테마연구사업(C10030)'의 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 전국한 의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울 : 도서출판 영림사. 2004 : 565-6.
2. 주영승. 운곡본초학 下. 서울 : 도서출판 서림재. 2004 :

- 304-6.
3. 中國科學院中國植物誌編輯委員會. 中國植物誌 13(2). 北京 : 科學出版社. 1979 : 5.
4. 식품의약품안전청. 대한약전의한약(생약)규격집. 2007 : 209.
5. 國家中醫藥管理局中華本草編委會. 中華本草 8. 上海 : 上海科學技術出版社. 1999 : 468-78.
6. Wu ZY, Raven PH, Hong DY, eds. Flora of China. Vol. 23 (Acoraceae through Cyperaceae). Beijing : Science Press, St. Louis : Missouri Botanical Garden Press. 2010 : 1-2.
7. 國家藥典委員會. 中華人民共和國藥典. 北京 : 化學工業出版社. 2005 : 62.
8. 國家藥典委員會. 中華人民共和國藥典. 北京 : 中國醫藥科技出版社. 2010 : 85.
9. 최교야. 한약기원정리집. 파주 : 한국학술정보. 2008 : 40.
10. 國家中醫藥管理局中華本草編委會. 中華本草 3. 上海 : 上海科學技術出版社. 1999 : 156.
11. 中國科學院中國植物誌編輯委員會. 中國植物誌 28. 北京 : 科學出版社. 1980 : 12.
12. 徐有光, 張全文, 高蘭一. 菖蒲有多種, 用時須辨清. 中國醫藥指南. 2008 ; 6(22) : 170-1.
13. 최교야. 석창포의 내외부형태와 이화학적패턴 연구. 우석대학교 대학원 석사학위논문. 2007.
14. 張立國. 3種菖蒲類藥材的鑑別與應用. 現代中西醫結合雜誌. 2008 ; 17(11) : 1705-6.
15. 陳大霞, 陳俊華. 菖蒲類藥材的鑑定研究. 重慶中草藥研究. 2007 ; (1) : 5-7.
16. 翁青荷. 石菖蒲與易混品水菖蒲的鑑別. 海峽藥學. 2006 ; 18(1) : 107-8.
17. 劉春海, 劉西京, 楊華生. 石菖蒲揮發油的GC-MS分析. 中醫藥學刊. 2006 ; 24(7) : 1280.
18. 魏立平, 吳玖涵. 用氣相色譜法同時測定石菖蒲揮發油中 α -細辛醛和 β -細辛醛的含量. 解放軍藥學學報. 2005 ; 21(1) : 62.
19. 高玉瓊, 劉建華, 霍昕. 石菖蒲揮發油成分的研究. 貴陽醫學院學報. 2003 ; 28(1) : 31.
20. 柯雪梅, 方永奇. 石菖蒲揮發油對腦缺血-再灌注腦中氨基酸的影響. 中國老年學雜誌. 2003 ; 23(5) : 302.
21. 류성진. 한약재로부터 뇌세포 산화억제와 항허혈 치매 물질 탐색. 인제대학교대학원 석사학위논문. 2003.
22. 蔣文躍, 楊宇, 李燕燕. 化痰藥半夏, 瓜蒌, 浙貝母, 石菖蒲對大鼠血液流變性的影響. 中醫雜誌 2002 ; 43(3) : 215.
23. 唐洪梅, 招榮鑑, 鄧玉群. 石菖蒲揮發油和水溶性成分對癲癇小鼠腦組織SOD, LPO, NO的影響. 中國藥師. 2005 ; 8(12) : 983.
24. 박동준, 정승현, 문일수, 이원철, 신길조, 흰쥐 대뇌세포의 저산소증 모델에서 석창포에 의한 유전자 표현 변화의 microarray 분석. 생명과학회지. 2007 ; 17(1) : 150-61.
25. 景玉宏, 馮慎遠, 湯曉琴. 石菖蒲對學習記憶的影響及突觸機制. 中國中醫基礎醫學雜誌. 2002 ; 8(6) : 38.
26. 胡錦官, 顧健, 王志旺. 石菖蒲及其有效成分對學習記憶的

- 實驗研究. 中藥材. 1999 ; 22(11) : 584.
27. Geng Y, Li C, Liu J, Xing G, Zhou L, Dong M, Li X, Niu Y. Beta-asarone improves cognitive function by suppressing neuronal apoptosis in the beta-amyloid hippocampus injection rats. *Biol Pharm Bull*. 2010 ; 33(5) : 836-43.
 28. Manikandan S, Devi RS. Antioxidant property of alpha-asarone against noise-stress-induced changes in different regions of rat brain. *Pharmacol Res*. 2005 ; 52(6) : 467-74.
 29. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999 ; 26(9) : 1231-7.
 30. Koleva II, van Beek TA, Linssen JP, de Groot A, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal*. 2002 ; 13 : 8-17.
 31. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "antioxidant power" : the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996 ; 239(1) : 70-6.
 32. 陳存仁. 漢方醫藥大事典-中國藥學大典 4. 서울 : 송악. 1988 : 72-5.
 33. 周鳳梧. 實用中藥學. 山東 : 山東科學技術出版社. 1981 : 409-10.
 34. 李時珍. 本草綱目 上. 北京 : 人民衛生出版社. 1982 : 43,1356-61.
 35. 허복구, 박용서, 유용권, 한태호, 박윤점, 신장식, 조자용. 창포(*Acorus calamus* L. var *angustatus*) 추출물의 생리활성 검정. *화훼연구*. 2008 ; 16(3) : 168-73.