

속단, 익모초 및 향부자의 독성평가를 위한 성분분석 및 안정성 시험

배윤호¹ · 허정임² · 광승준³ · 석지현⁴ · 이종권⁴ · 강태석⁴ · 우미희¹ · 최재수⁵ · 민병선^{1*}

¹대구가톨릭대학교 약학대학, ²안전성평가연구소, ³창원대학교 자연대학,
⁴식품의약품안전청 독성평가연구부, ⁵부경대학교 식품생명공학부

Analysis and Stability Test of the Extracts from *Dipsaci Radix*, *Leonuri Herba* and *Cyperi Rhizoma* for Toxicity Study

Yoon Ho Bae¹, Jung Im Huh², Seung Jun Kwack³, Ji-Hyeon Seok⁴, Jong-Kwon Lee⁴,
Tae Suk Kang⁴, Mi Hee Woo¹, Jae Sue Choi⁵ and Byung Sun Min^{1*}

¹College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea

²Korea Institute of Toxicology, Daejeon 305-343, Korea

³College of Natural Science, Changwon National University, Kyeongnam 641-773, Korea

⁴Toxicological Evaluation and Research Department, Korea Food & Drug Administration, Chungbuk 363-951, Korea

⁵Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract – A simple and reliable reverse phase HPLC method was developed to determine pharmacologically active marker compounds of *Dipsaci Radix*, *Leonuri Herba* and *Cyperi Rhizoma*. The stability test of water-extract of three natural medicines were examined for six months. However, no significant change in the content of the marker compounds of each extract observed during the time of investigation.

Key words – *Dipsaci Radix*, *Leonuri Herba*, *Cyperi Rhizoma*, 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 381종으로 총 511종의 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 알려져 있

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

식품의약품안전청에서는 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 지표성분 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): +82-53-850-3613

속단(*Dipsaci Radix*)은 천속단(*Dipsacus asperoides* C. Y. Chang et T. M. Ai, Dipsacaceae)의 뿌리를 사용하며 saponin계 성분인 akebia saponin D, dipsacus asaponins VI, X and XII 등이 알려져 있다.^{6,7)} 속단 물 추출물의 주요 성분인 polysaccharide류는 항보체활성 등의 면역조절작용,⁸⁾ total saponin 분획물이 amyloid protein 25-35에 대한 neuron 보호 작용,⁹⁾ 물 추출물은 관절염에 대한 항염증작용 등이¹⁰⁾ 알려져 있다. 익모초(*Leonuri Herba*)는 익모초(*Leonurus japonicus* Houtt. 혹은 *L. heterophyllus* Sweet)의 꽃이 피었을 때 지상부 혹은 지상부를 조정, 이노약으로 월경불순, 타박상, 신장염의 치료제로 사용되고 있다.¹¹⁾ 익모초의 주요성분으로 alkaloid계 성분 leonurine, stachydrine,¹²⁾ flavonoid계 성분으로 rutin, hyperoside, quercetin, apigenin, genkwanin 등이 보고되어 있고,¹³⁾ diterpene계 성분으로 heteronone A, heteronone B, prehispanolone, leojaponine, preleoheterin 등이 분리되었고,^{14,15)} 이들은 간세포, 심장 및 뇌신경세포 보호작용 등이 연구되어 있다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 향부자(*Cyperus Rhizoma*)는 향부자(*Cyperus rotundus*, Cyperaceae)의 가는 뿌리를 제거한 뿌리줄기로 통경, 정혈, 진통약으로 월경부조, 월경통, 신경통, 위 복통에 사용되는 생약이다.¹⁹⁾ 향부자의 주요성분은 sesquiterpene계 화합물로 cyperone, nootkatone, valencene, rotundine 등이 보고되어 있고,^{20,21)} 이들의 성분의 생리활성은 폐혈증억제, 항알러지, 혈소판응집억제작용 등이 보고되어 있다.²²⁻²⁴⁾

본 연구는 속단, 익모초 및 향부자의 3종 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 3종의 생약, 속단, 익모초 및 향부자는 유통되는 생약을 기원별, 산지별로 구입하여 기원, 성장, 색상, 냄새 등을 기준으로 생약감별 자문위원회(동국대학교, 이제현 교수; 충남대학교, 김영호 교수; 영남대학교, 나민균 교수; 충남대학교, 배기환 교수; 대구가톨릭대학교, 민병선 교수)의 감별을 거쳐 선별하였고 선정된 시료는 대구가톨릭대학교 약학대학 표본실에 보관되어 있다(속단, CUD-3175-1; 익모초, CUD-2604-1; 향부자, CUD-705-1). 속단(*Dipsaci Radix*)는 중국산을 사용하였고, 익모초(*Leonuri Herba*) 및 향부자(*Cyperus Rhizoma*)는 한국산을 사용하였다. 각 생약은 식품의약품안전청 고시 2003-17, 안전성 유효성심사규정에 준한 표준탕제 제조법에 따라 열수추출하고 이를 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다.²⁵⁾

시약 및 기기 - α -cyperone은 성균관대학교 약학대학 광중환 박사님께, sweroside는 대구가톨릭대학교 약학대학 우미희 교수님께, rutin은 부경대학교 최재수 교수님께 제공받아 사용하였다. HPLC system은 Gilson사의 306 pump, 811C dynamic mixer, UV/VIS-156 detector, 231 XL sample injector, GILSON UniPoint data 및 Waters사 binary pump controller Waters 1525, 717 auto-sampler, dual λ absorbance detector Waters 2478를 사용하였으며, column은 Agilent Technologies사의 Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm)를 사용하였다. HPLC 용매는 Burdick & Jackson사의 MeOH 및 acetonitrile을 사용하였고, H₂O는 Milli-Q로 처리한 물을 사용하였다.

표준액 조제 - sweroside, rutin, α -cyperone의 표준품을 정확하게 측정 후 70% MeOH로 1 mg/mL 농도로 녹여 4°C에 보관하면서 사용전에 희석하여 표준액으로 사용하였다. 분석용 표준액은 membrane filter로 여과한 후 사용하였다.

검액의 조제 - 속단 25 kg, 익모초 35 kg, 향부자 25 kg을 추출 탱크에 넣고, 물을 시료의 10배로 첨가하여 100°C에서 2시간 전탕한 후 농축 동결 건조하여 각각 10.5, 5.87, 4.65 kg의 물 추출물을 얻었다. 추출물 100 mg을 정확히 측정 후 70% MeOH 10 mL을 넣고 sonicator로 60분 추출한 후 membrane filter로 여과하여 검액으로 사용하였다.

지표물질 정량 - 문헌 등의 자료 및 HPLC 분석 자료를 토대로 지표물질을 선정하였고, Table I과 같은 조건으로 분석하였다. 각각의 지표성분은 검량선을 작성하여 생약 추출물의 함량을 평가하였다.

직선성, 검출한계 및 정량한계(Linearity, LOD, LOQ) - sweroside, rutin과 α -cyperone의 검량선은 0.1~40 μ g/mL, 1.25~20 μ g/mL 및 1.25~40 μ g/mL로 피크면적에 대하여 각각 작성하여 계산하였다. 상관계수를 구하여 직선성의 양호를 판단하였고, LOD (limit of detection, 검출한계)와 LOQ (limit of quantitation, 정량한계)는 신호(signal) 대 잡음(noise)의 비를 이용하여 각각 4과 10을 기준으로 계산하였다.

추출물 안정성 실험 - 3종의 생약의 열수 추출물을 동결 건조한 분말의 안정성 실험을 위해 시료를 실온과 냉장에 6개월 보관하면서 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 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

속단, 익모초, 향부자의 독성실험을 위한 물 추출물을 제조하고 각각의 추출물의 주요성분 분석과 추출물의 안전성을 확인하고자 연구를 하였다. 3종의 생약재의 확인을 위한 주요성분 분석과 HPLC peak의 profile을 통한 추출물의 안

Table I. HPLC conditions for Dipsaci Radix, Leonuri Herba, and Cyperi Rhizoma

Dipsaci Radix	Marker compounds: sweroside Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) Mobile phase: H ₂ O : acetonitrile = 90 : 10 \rightarrow 75 : 25 (60 min) Detector: 210 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C Injection volume: 10 μ L
Leonuri Herba	Marker compounds: rutin Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) Mobile phase: H ₂ O/MeOH (95/5) : H ₂ O/MeOH (5/95) = 75 : 25 \rightarrow 45 : 55 (20 min) \rightarrow 20 : 80 (30 min) Detector: UV 270 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C Injection volume: 20 μ L
Cyperi Rhizoma	Marker compound: α -cyperone Column: Agilent Eclipse XD8-C18 (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) Mobile phase: H ₂ O : acetonitrile = 50 : 50 \rightarrow 20 : 80 (30 min) \rightarrow 10 : 90 (40 min) Detector: 215 nm Flow rate: 1 mL/min Column Temp.: 30°C Injection volume: 10 μ L

정성도 확인을 하였다. 본 연구에서 안정성이 확보된 생약 추출물은 13주 반복투여 독성시험으로 안전성 실험 예정이다. 독성 시험을 위한 생약재 자체의 동정과 함유성분의 안정성은 독성 시험 전에 확보되어야 하는 필수요소이다.

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 3종의 생약에 대표적인 생리활성을 보이며 주성분으로 속단(Dipsaci Radix)에서는 iridoid glycoside계 화합물 sweroside을 지표성분으로,²⁶⁾ 익모초(Leonuri Herba)의 주요성분은 alkaloid계 성분 leonurine과 stachydrine이 있으나^{27,28)} 항산화작용이 있고 HPLC 분석이 용이한 flavonoid glycoside계 화합물 rutin을 지표성분으로 설정하였다.²⁹⁾ 그리고 향부자의 주성분은 sesquiterpene계 화합물 α -cyperone으로 설정하였으며 각각의 화합물 구조는 Fig. 1과 같다. 3가지 생약의 지표성분 HPLC 분석은 Table I의 조건으로 분석이 가능하였으며 추출물 분석에 다른 성분의 peak에 의해 방해받지 않았다(Fig. 2). 상기의 분석 조건으로 각 지표성분의 검량선을 작성한 결과 속단(Dipsaci Radix)의 sweroside 0.1~40 μ g/mL 농도에서 직선성이 0.9999, 익모초(Leonuri Herba)의 rutin은 1.25~20 μ g/mL 농도에서 직선성이 0.9994, 향부자(Cyperi Rhizoma)의 α -cyperone은 1.25~40 μ g/mL 농도에서 직선성이 0.9986 이상으로 높은 직선성이 확인되었다(Table II).

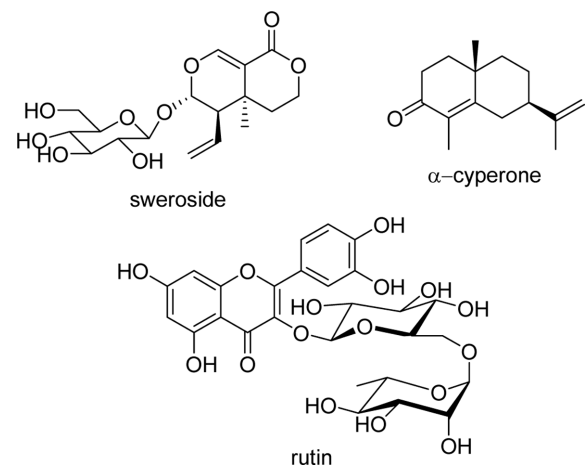


Fig. 1. Chemical structures of maker compounds (sweroside isolated from Dipsaci Radix; rutin isolated from Leonuri Herba; α -cyperone isolated from Cyperi Rhizoma).

열수추출물 안정성시험 - 속단, 익모초, 향부자의 물 추출물에 대한 안정성 자료를 얻고자, 각각의 추출물을 실온과 냉장에 보관하고 6개월간 일정 기간 간격 (1, 2, 4, 6 개월)으로 육안 관찰하고 유효성분 함량평가를 수행하였다. 육안 관찰에서는 실온과 냉장 장기보관시험 조건에서 색 등의 변화가 관찰되지 않았으나, 6개월 장기보관에 속단과 익모초의 추출물은 실온에 저장한 시료가 흡수에 의한 굳어지는 현상이 있었고 향부자 추출물은 외부적인 변화가 관찰되지 않았다.

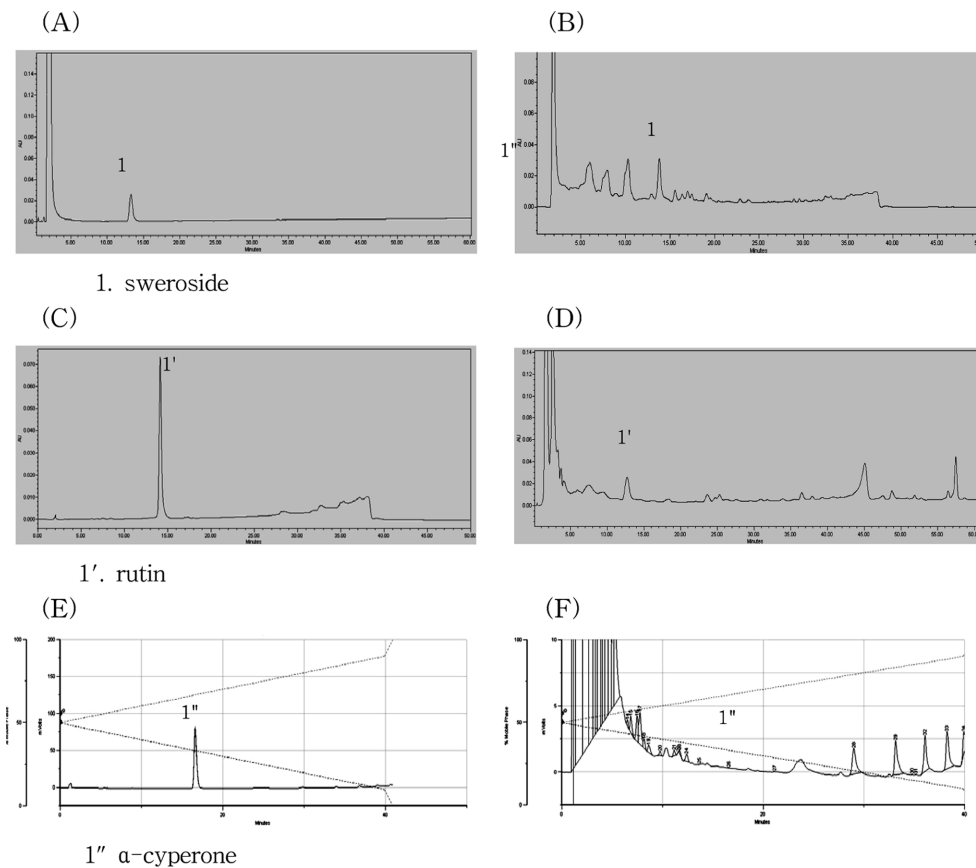


Fig. 2. HPLC chromatogram (A) standard compounds of *Dipsaci Radix*; (B) extract of *Dipsaci Radix*; (C) standard compounds of *Leonuri Herba*; (D) extract of *Leonuri Herba*; (E) standard compound of *Cyperi Rhizoma*; (F) extract of *Cyperi Rhizoma*.

Table II. Calibration data of HPLC-UV

	Maker compound	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	Correlation coefficients	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
<i>Dipsaci Radix</i>	Sweroside	0.1 ~ 40	0.9999	14	32
<i>Leonuri Herba</i>	Rutin	1.25 ~ 20	0.9994	100	250
<i>Cyperi Rhizoma</i>	α -cyperone	1.25 ~ 40	0.9986	100	250

지표성분의 크로마토그램과 함량은 Fig. 2와 Table III과 같으며 속단(*Dipsaci Radix*)의 열수 추출물 HPLC 분석 결과 sweroside가 상기의 분석 조건에서 분리가 되었고, HPLC chromatogram과 같이 주성분 중의 하나로 확인 되었다. 생약규격집에 속단의 지표성분에 대한 함량 규정이 되어 있지 않으나 sweroside는 지표물질로 좋은 지표물질의 후보임을 알 수 있다. 속단 추출물을 6개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료도 sweroside의 함량에는 차이가 없어 속단의 열수 추출물은 안정함을 확인할 수 있었다. 익모초(*Leonuri Herba*)의 추출물 HPLC 분석 결과 rutin은 상기의 분석조건에서 검출되었고, HPLC chromatogram으로 rutin이 주성분으로 확인되었다. 6개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 익모초 추출물에 대해 rutin의 함량을 분석한

결과 6개월 동안 보관시료의 rutin 함량에는 차이가 없어, 익모초의 열수 추출물은 안정한 것으로 확인되었다. 향부자(*Cyperi Rhizoma*)의 지표물질은 α -cyperone을 선정하였고 Table I의 HPLC 조건에서 분석 가능하였으며 시료에서의 표준물질 함량은 chromatogram과 같이 미량 검출되었다. 향부자의 주성분은 정유로 sesquiterpene이 주요 구성물질로 알려져 지표물질로 선정하였으나 향부자를 열수 추출과 동결건조 과정에서 정유성분이 휘발되었음을 예상할 수 있다. 향부자 추출물 6개월 동안 실온과 냉장 조건에서 보관한 시료에 대한 분석 결과 α -cyperone의 함량에 변화가 없었으며 HPLC chromatography상 불순물로 검출되는 피크가 없어 향부자 열수 추출물의 안정성을 확인할 수 있었다.

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

	Room temperature (mg/g)				
	0 month	1 month	2 month	4 month	6 month
Sweroside	9.77 ± 0.49	9.68 ± 0.78	9.75 ± 0.54	9.56 ± 0.66	9.54 ± 0.78
Rutin	2.12 ± 0.07	2.14 ± 0.06	2.11 ± 0.05	2.16 ± 0.09	2.16 ± 0.02
α-cyperone	0.034 ± 0.01	0.032 ± 0.04	0.034 ± 0.01	0.033 ± 0.02	0.037 ± 0.02

	5°C (mg/g)				
	0 month	1 month	2 month	4 month	6 month
Sweroside	9.77 ± 0.49	9.66 ± 0.54	9.91 ± 0.68	9.76 ± 0.43	9.66 ± 0.72
Rutin	2.22 ± 0.08	2.24 ± 0.07	2.11 ± 0.05	2.11 ± 0.06	2.20 ± 0.09
α-cyperone	0.034 ± 0.01	0.038 ± 0.05	0.035 ± 0.05	0.034 ± 0.02	0.035 ± 0.02

결 론

생약재의 독성실험을 위한 추출물은 식약청고시 2003-17, 표준탕제 제조법에 따라 추출 제조하였다. 추출물의 함량분석을 위해 속단(Dipsaci Radix)의 지표성분은 sweroside로, 익모초(Leonuri Herba)의 지표성분은 rutin으로 향부자(Cyperi Rhizoma)는 α-cyperone을 지표물질로 선정하였다. 각각의 성분은 HPLC-UV detector와 RP C-18 column으로 분석이 가능하였다. 추출생약재의 장기보존에 따른 안정성 시험을 위해 시료는 실온과 냉장고에 보관하였고, 실험기간은 각각 6개월간 HPLC로 분석하여 각각의 peak의 pattern과 지표물질의 함량으로 3종 생약의 안정성을 확인한 결과 속단, 익모초 및 향부자 추출물은 안정한 것으로 확인되었다. 이러한 생약 시료의 표준화와 안정성 결과는 독성시험 결과의 신뢰성을 확보하고 생약의 유통과정의 효율적 품질관리 개선에도 활용이 가능하다고 기대된다.

사 사

본 연구는 2011년도 식품의약품안전평가원 용역연구개발과제의 연구개발비 지원 (11182독관리557)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.
- Tan, H. G., Lin, S., Zhang, Q. W. and Ji, L. (2006) Determination of akebia saponin D in root of *Dipacus asperoides* by HPLC. *Zhongguo. Zgang Yao Za. Zhi* **31**: 726-727.
- Liu, J., Guo, B., Huang, W., Xiao, P., Song, H. and Qang, C. (2011) Determination of saponins in Dipsaci Radix by HILIC-HPLC. *Zhongguo. Zgang Yao Za. Zhi.* **36**: 2367-2371.
- Zhang, Y., Kiyohara, H., Matsumoto, T. and Yamada, H. (1997) Fractionation and chemical properties of immunomodulating polysaccharides from roots of *Dipsacus asperoides*. *Planta Med.* **63**: 393-399.
- Qian, Y. H., Liu, Y., Hu, H. T., Ren, H. M., Chen, X. L. and Xu, J. H. (2002) The effects of the total saponin of *Dipsacus asperoides* on the damage of cultured neurons induced by beta-amyloid protein 25-35. *Anat. Sci. Int.* **77**: 196-200.
- Jung, H. W., Jung, J. K., Son, K. H., Lee, D. H., Kang, T. M., Kim, Y. S. and Park, Y. K. (2012) Inhibitory effects of the root extract of *Dipsacus asperoides* C.Y. Cheng et al T.M.Ai on collagen-induced arthritis in mice. *J. Ethnopharmacol.* **139**: 98-103.
- Park, J. H. and Do, W. I. (2007) Pharmacognostical Studies on the Ig Mo Cho. *Kor. J. Pharmacogn.* **38**: 148-151.
- Hong, S. S., Hwang, J. S., Lee, S. A., Hwang, B. Y., Ha, K. W., Ze, K. R., Seung, R. S., Ro, J. S. and Lee, K. S. (2001) Isolation and quantitative analysis of leonurine from Leonuri Herba. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 322-326.
- Cong, Y., Guo, J., Wang, T., Li, M., Wang, J. and Li, O.

- (2009) Chemical constituents and antitumor activity on leukemia K562 cell of *Leonurus heterophyllus*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **34**: 1816-1818.
14. Cai, X. H., Che, C. T., Lam, C. K., Mak, T. C. and Wu, L. J. (2006) A new labdane diterpene from *Leonurus heterophyllus*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **8**: 599-603.
 15. Giang, P. M., Son, P. T., Matsunami, K. and Otsuka, H. (2005) New bis-spirolabdane-type diterpenoids from *Leonurus heterophyllus* Sw. *Chem. Pharm. Bull.* **53**: 1475-1479.
 16. Li, Y., Chen, Z., Feng, Z., Yang, Y., Jiang, J., and Zhang, P. (2011) Hepatoprotective glycosides from *Leonurus japonicus* Houtt. *Carbohydr. Res.* in press.
 17. Mnonopi, N., Levendal, R. A., Davies-Coleman, M. T. and Frost, C. L. (2011) The cardioprotective effects of marrubiin, a diterpenoid found in *Leonotis leonurus* extracts. *J. Ethnopharmacol.* **138**: 67-75.
 18. Liang, H., Liu, P., Wang, Y., Song, S. and Ji, A. (2011) Protective effects of alkaloid extract from *Leonurus heterophyllus* on cerebral ischemia reperfusion injury by middle cerebral ischemic injury (MCAO) in rats. *Phytomedicine* **18**: 811-818.
 19. Lee, H. J., Yang, K. S., Lee, D. H. and Kim, T. H. (1985) Pharmacological studies on the *Cyperus rotundus*. *Kor. J. Pharmacogn.* **16**: 49-50.
 20. Yang, J. L. and Shi, Y. P. (2011) Terpenoids from the Rhizomes of *Cyperus rotundus* L. *Planta Medica* **78**: 59-64.
 21. Jeong, S. J., Miyamoto, T., Inaqaki, M., Kim, Y. C. and Higuichi, R. (2001) Rotundines A-C, three novel sesquiterpene alkaloids from *Cyperus rotundus*. *J. Nat. Prod.* **63**: 673-675.
 22. Tsoyi, K., Jang, H. J., Lee, Y. S., Kim, H. J., Seo, H. G., Lee, J. H., Kwak, J. H., Lee, D. U. and Chang, K. C. (2011) (+)-Nootkatone and (+)-valencene from rhizomes of *Cyperus rotundus* increase survival rates in septic mice due to heme oxygenase-1 induction. *J. ethnopharmacol.* **137**: 1311-1317.
 23. Jin, J. H., Lee, D. U., Kim, Y. S. and Kim, H. P. (2011) Anti-allergic activity of sesquiterpenes from the rhizomes of *Cyperus rotundus*. *Arch. Pharm. Res.* **34**: 223-228.
 24. Seo, E. J., Lee, D. U., Kwak, J. H., Lee, S. M., Kim, Y. S. and Jung, Y. S. (2011) Antiplatelet effects of *Cyperus rotundus* and its component (+)-nootkatone. *J. ethnopharmacol.* **135**: 48-54.
 25. 식의약청고시 2003-17. 안전성유효성심사규정.
 26. Tomita, H. and Mouri, Y. (1996) An iridoid glucoside from *Dipsacus asperoides*. *Phytochemistry* **42**: 239-240.
 27. Chen, Z., Bu, J. B., Liao, X. J., Yang, W. and Song, K. (2010) Development and validation of an UPLC-DAD-MS method for the determination of leonurine in Chinese motherwort (*Leonurus japonicus*). *J. Chromatogr. Sci.* **48**: 802-806.
 28. Chao, Z., Ma, L. L. and Zhou, X. J. (2004) Development and validation of an UPLC-DAD-MS method for the determination of leonurine in Chinese motherwort (*Leonurus japonicus*). *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* **24**: 1223-1226.
 29. Cung, Y., Wang, J. H. and Li, X. (2005) A new flavonoside from *Leonurus heterophyllus*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **7**: 273-277.

(2012. 2. 4 접수; 2012. 2. 24 심사; 2012. 2. 27 게재확정)