

LC-MS/MS를 이용한 당귀수산 추출물 중 17종 성분의 함량분석

서창섭 · 신현규[#]

한국한의학연구원 한약방제연구그룹

(Received April 7, 2014; Revised June 12, 2014; Accepted June 12, 2014)

Quantitative Analysis of the Seventeen Marker Components in Dangguisu-san Using Ultra-performance Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry

Chang-Seob Seo and Hyeun-Kyoo Shin[#]

Herbal Medicine Formulation Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

Abstract — Dangguisu-san is a well-known traditional Korean herbal medicine prescription and has been widely used to treat ecchymosis, blood stagnation, and pain resulting from physical shock in Korea. In this study, an ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometer method was established for the simultaneous determination of the 17 biomarker components in Dangguisu-san. All analytes were separated on an UPLC BEH C₁₈ (100×2.1 mm, 1.7 μm) column and maintained at 45°C. The mobile phase consisted of two solvent systems, 0.1% (v/v) formic acid in water (A) and acetonitrile (B) by gradient flow. The injection volume was 2.0 μl and the flow rate was 0.3 ml/min with detection at mass spectrometer. Calibration curves of the 17 biomarker components were acquired with r^2 values ≥ 0.9951 . The values of limit of detection and quantification of all analytes were 0.02~6.32 ng/ml and 0.05~18.95 ng/ml, respectively. The amounts of the 17 components in Dangguisu-san sample were 3.17~13,224.50 μg/g.

Keywords □ LC-MS/MS, Dangguisu-san, quantitative analysis

오늘날 경제성장으로 인한 고령화 사회 및 만성 난치성 질환자의 증가로 한약 복용과 관심이 증가하고 있다. 이러한 한약 처방은 일반적으로 두 종 이상의 한약재로 구성되어 있으며, 각각의 구성 한약재는 수많은 성분들을 함유하고 있다. 따라서 한약 처방은 여러 약재와 성분의 상호작용으로 다양한 질환들의 치료 또는 예방을 위해 사용되어 왔다.^{1,2)} 이러한 한약 처방 중 하나인 당귀수산은 明代 李³⁾의 「醫學入門」에 처음 수록된 처방으로 당귀(*Angelica gigas*), 적작약(*Paeonia obovata*), 오약(*Lindera strichnifolia*), 향부자(*Cyperus rotundus*), 소목(*Caesalpinia sappan*), 홍화(*Carthamus tinctorius*), 도인(*Prunus persica*), 계피(*Cinnamomum cassia*) 및 감초(*Glycyrrhiza uralensis*) 등 9종의

생약으로 구성되어 있으며, 破瘀行氣 溫經之劑로 氣血의 循環을 도우며 祛瘀하는 효능이 있어 打撲이나 落傷 등으로 전신 또는 국소에 血栓이나 血管鬱血이 생겨서 아프고 복부팽만감이 있을 때 사용되었다.^{4,5)} 본 처방의 실험적 연구로 항염증,⁶⁾ 초기 골절에 의한 골결합,⁷⁾ 피하혈종,⁸⁾ 항혈전⁹⁾ 및 뇌허혈 개선¹⁰⁾ 효과 등이 보고되었다. 또한 긴장형 두통 개선,¹¹⁾ 알레르기성 紫斑證 개선,¹²⁾ 교통사고 환자의 피부저항변이도 특성¹³⁾ 및 간장과 신장의 기능이상을 나타낸 重症 跌撲瘀血痛 환자에서의 개선¹⁴⁾ 등에 대한 효과와 같은 증례보고와 임상연구가 다수 보고되었다. 이와 같이 한약 처방에 대한 실험적 효능과 임상적 증례보고는 다수 발표가 되었지만 품질관리를 위한 분석에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 한약제제의 품질관리에 기초 자료를 제공하고자 한의학에서 타박상으로 인한 혈액의 응결에 널리 사용되는 당귀수산을 선정하여 구성 성분에 대한 분석을 실시하였다.⁵⁾ 본 처방의 구성 약재 중 nodakenin(당귀), albiflorin과 paeoniflorin(적작약), boldine과 norisoboldine(오약), nootkatone(향부자), juglone과 brazilin(소목), safflomin A와 sophoricoside(홍화), amygdalin(도인), coumarin, cinnamic acid

[#]Corresponding Author

Hyeun-Kyoo Shin

Herbal Medicine Formulation Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine, 1672 Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea

Tel.: 042-868-9464 Fax.: 042-864-2120

E-mail: hkshin@kiom.re.kr

및 cinnamaldehyde(계피) 및 liquiritin, liquiritigenin 및 glycyrrhizin(감초) 등 17종의 성분을 대상으로 electrospray ionization(ESI) 방식의 질량분석기가 결합된 초고성능 액체크로마토그래피(ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometer; UPLC-MS)를 이용하여 분석함으로써 한약 처방의 품질관리에 대한 기초 자료를 제공하고자 본 연구를 실시하였다.

실험방법

실험재료

Table I과 같이 본 실험에 사용된 당귀수산을 구성하는 9종의

구성 생약은 모두 광명당제약(Ulsan, Korea)에서 규격품을 구입하여 전문가로부터 감정 후 사용하였다. 당귀수산 구성 생약들의 표본(2012-KE33-1~KE33-9)은 한국한의학연구원 한약방제 연구그룹에 보관하였다.

시약 및 기기

표준물질인 boldine(1), amygdalin(4), coumarin(12), cinnamic acid(13) 및 juglone(14)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, paeoniflorin(6), albiflorin(7), liquiritin(8), cinnamaldehyde(15), glycyrrhizin(16) 및 nootkatone(17)은 Wako Pure Chemical Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하

Table I – Composition of Dangguisu-san

Herbal name	Scientific name	Supplier	Location of origin	Amount (g)
Angelicae Gigantis Radix	<i>Angelica gigas</i>	Kwangmyungdang	Bonghwa, Korea	5.625
Paeoniae Radix Rubra	<i>Paeonia obovata</i>	Kwangmyungdang	Uiseong, Korea	3.75
Linderae Radix	<i>Lindera strichmifolia</i>	Kwangmyungdang	China	3.75
Cyperi Rhizoma	<i>Cyperus rotundus</i>	Kwangmyungdang	Yeongcheon, Korea	3.75
Caesalpiniae Lignum	<i>Caesalpinia sappan</i>	Kwangmyungdang	Indonesia	3.75
Carthami Flos	<i>Carthamus tinctorius</i>	Kwangmyungdang	China	3.0
Persicae Semen	<i>Prunus persica</i>	Kwangmyungdang	South Africa	2.625
Cinnamon Bark	<i>Cinnamomum cassia</i>	Kwangmyungdang	Vietnam	2.25
Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Kwangmyungdang	China	1.875
Total amount				30.375

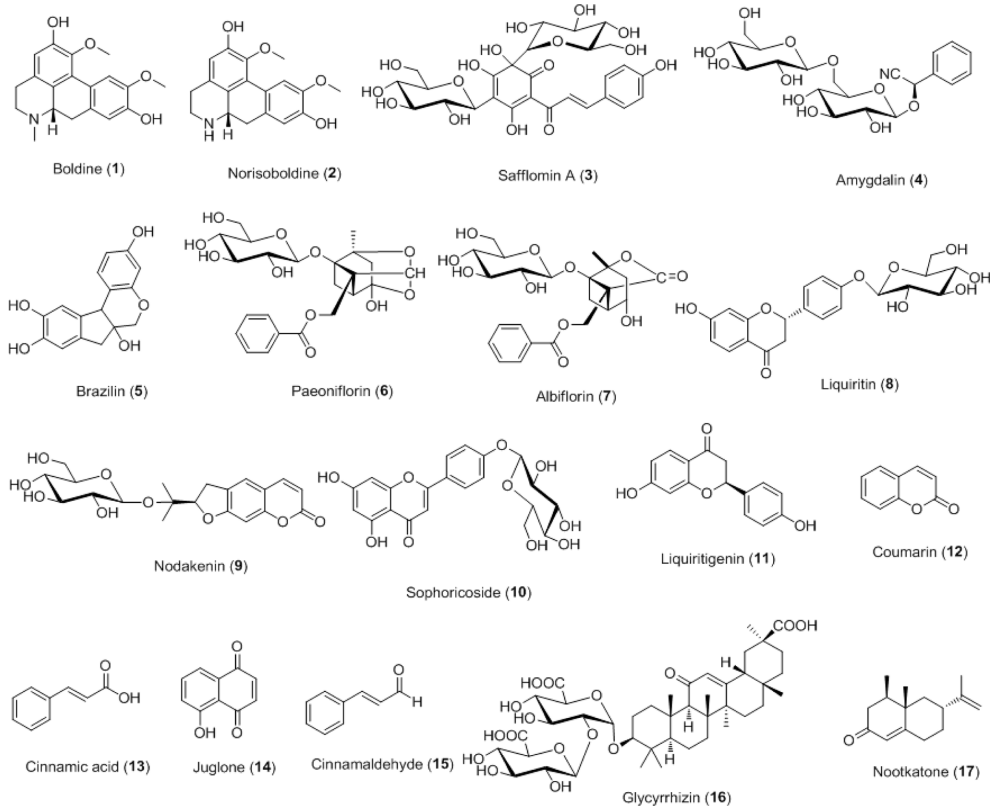


Fig. 1 – Chemical structures of 17 constituents Dangguisu-san.

였다. 또한 nodakenin(9)은 NPC Bio Technology(Yeongi, Korea), norisoboldine(2), brazilin(5) 및 liquiritigenin(11)은 Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd.(Chengdu, China) 및 safflomin A(3)와 sophoricoside(10)는 ChemFaces (Wuhan, China)로부터 각각 구입하여 사용하였다. 이들 표준물질의 순도는 모두 98% 이상이었다. LC-MS 분석을 위한 물, 아세트나이트릴 및 물은 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였으며, 개미산은 특급시약으로 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 함량분석을 위한 UPLC는 pump, degasser, column oven 및 autosampler로 구성된 Waters의 ACQUITY UPLC(Milford, MA, USA)를 사용하였으며, 질량분석기는 ESI source가 장착된 탠덤 사중극자 질량분석기(ACQUITY TQD LC-MS/MS, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하여 분석하였다. 데이터의 수집과 처리는 Waters MassLynx software(version 4.1, Milford, MA, USA)를 사용하였다. 시료 추출을 위해 경서기계산업의 초고속진공저온농축추출기(Cosmos 660, Incheon, Korea)를 사용하였다.

표준액의 조제

Boldine, norisoboldine, safflomin A, amygdalin, brazilin, paeoniflorin, albiflorin, liquiritin, nodakenin, sophoricoside, liquiritigenin, coumarin, cinnamic acid, juglone, cinnamaldehyde, glycyrrhizin 및 nootkatone 등 17종의 표준품에 대한 표준용액은 메탄올을 이용하여 모두 1.0 mg/ml의 농도로 조제한 후 4°C에 보관하면서 사용 전에 희석하여 사용하였다.

당귀수산 물 추출물 및 검액의 조제

당귀수산의 구성한약재를 Table I과 같이 무게 비율로 배합(5.0 kg; 130.375 g×164.6)하여 초고속진공저온농축추출기(Cosmos 660, Incheon, Korea)에 넣고, 물을 시료의 10배(50 l)로 첨가하여 100°C에서 1 kgf/cm² 압력하에서 2시간 전탕 한 후 표준체(No. 270, 53 µm, Chung Gye Sang Gong Sa, Seoul, Korea)를 이용하여 여과한 후 동결건조기(PVTFD100R, IShinBioBase, Dongduchun, Korea)를 사용하여 동결 건조하였다. 그 결과 16.9%의 수율인 845.4 g의 추출물을 얻었다. LC-MS/MS 정량분석을 위해 동결 건조된 당귀수산 물 추출물 100 mg을 정확히 취한 후 물을 넣어 5 ml로 맞춘 후 5분간 초음파 추출하였다. 그 후 추출액 100 µl를 물을 이용하여 10 ml로 100배 희석한 후 0.22 µm 멤브레인 여과하여 검액으로 하였다.

UPLC 및 LC-MS/MS 분석 조건

성분의 분리를 위한 UPLC는 Waters사의 ESI 소스의 질량분석기가 결합된 ACQUITY UPLC를 사용하였다. 17종 성분은 ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1×100.0 mm, 1.7 µm) 칼럼을 사

Table II – Conditions for LC-MS/MS analysis of Dangguisu-san

HPLC condition			
Column	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ (100×2.1 mm, 1.7 µm)		
Flow rate	0.3 ml/min		
Injection volume	2.0 µl		
Column temperature	45°C		
Sample temperature	5°C		
	Time (min)	A (%) ^a	B (%) ^b
	0	80	20
	0.1	80	20
Mobile phase	14.0	5	95
	15.0	0	100
	15.1	80	20
	18.1	80	20
MS condition			
Capillary voltage (kV)	3.3		
Extract voltage (V)	3.0		
Source temp. (°C)	120		
RF lens (V)	0.3		
Desolvation temp. (°C)	300		
Desolvation gas (l/h)	600		
Cone gas (l/h)	50		
Collision gas (ml/min)	0.14		

^a0.1% (v/v) formic acid in water.

^bAcetonitrile.

용하여 분리하였으며, 0.1% 개미산이 함유된 물과 아세트나이트릴을 기울기 용매 조건으로 흘려주었다(Table II). 칼럼은 45°C를 유지하였으며, 유속은 분당 0.3 ml 및 주입량은 2.0 µl였다. 또한 함량 분석은 ACQUITY TQD MS를 사용하여 양이온과 음이온 모드에서 검출하였다. 최적의 검출을 위해 Table II와 같이 capillary voltage(3.3 kV), extract voltage(3 V), source temperature(120°C), RF lens(0.3 V), desolvation temperature(300°C), desolvation gas(600 l/h), cone gas(50 l/h) 및 collision gas(0.14 ml/min) 등의 파라미터와 각 성분의 precursor ion, product ion, cone voltage 및 collision energy 등에 대한 최적의 조건을 설정하여 다중반응탐색법(multiple reaction monitoring; MRM) 모드를 적용하여 정량을 실시하였다(Table III).

검량선 작성

17종의 표준품에 대한 검량선은 10, 50, 100 및 500 ng/ml의 농도로 작성하였으며, 작성된 검량선의 직선성은 상관계수(r^2)를 구하여 판단하였다. 검출한계와 정량한계는 신호 대 잡음 비인 3과 10으로 계산하였다.

결과 및 고찰

LC-MS/MS 분석조건 확립

당귀수산의 구성 생약의 주요 성분, boldine, norisoboldine,

Table III – Mass detection condition of marker compounds

Analyte	Molecular weight (Da)	Ionization mode	Retention time (min)	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
Boldine	327.3	$[M+H]^+$	0.82	328.3	265.1	30	20
Norisoboldine	313.3	$[M+H]^+$	0.82	314.3	297.2	25	13
Safflomin A	612.5	$[M-H]^-$	1.01	611.5	491.2	45	25
Amygdalin	457.3	$[M-H]^-$	1.17	456.4	323.0	32	11
Brazilin	286.2	$[M-H]^-$	1.32	285.2	163.0	40	20
Paeoniflorin	480.4	$[M-H]^-$	1.39	479.4	121.0	32	25
Albiflorin	480.4	$[M+H]^+$	1.40	481.4	197.1	20	15
Liquiritin	418.4	$[M-H]^-$	1.65	417.4	255.2	30	15
Nodakenin	408.4	$[M+H]^+$	1.85	409.4	247.2	30	15
Sophoricoside	432.3	$[M-H]^-$	1.99	431.3	268.1	45	30
Liquiritigenin	256.2	$[M+H]^+$	2.99	257.2	137.0	35	25
Coumarin	146.1	$[M+H]^+$	3.06	147.1	91.0	30	20
Cinnamic acid	148.1	$[M+H]^+$	3.74	149.1	131.0	20	10
Juglone	174.1	$[M+H]^+$	4.23	175.1	147.0	25	15
Cinnamaldehyde	132.1	$[M+H]^+$	4.42	133.1	115.0	25	15
Glycyrrhizin	822.9	$[M-H]^-$	5.20	821.9	351.2	45	40
Nootkatone	218.3	$[M+H]^+$	8.64	219.2	163.1	30	15

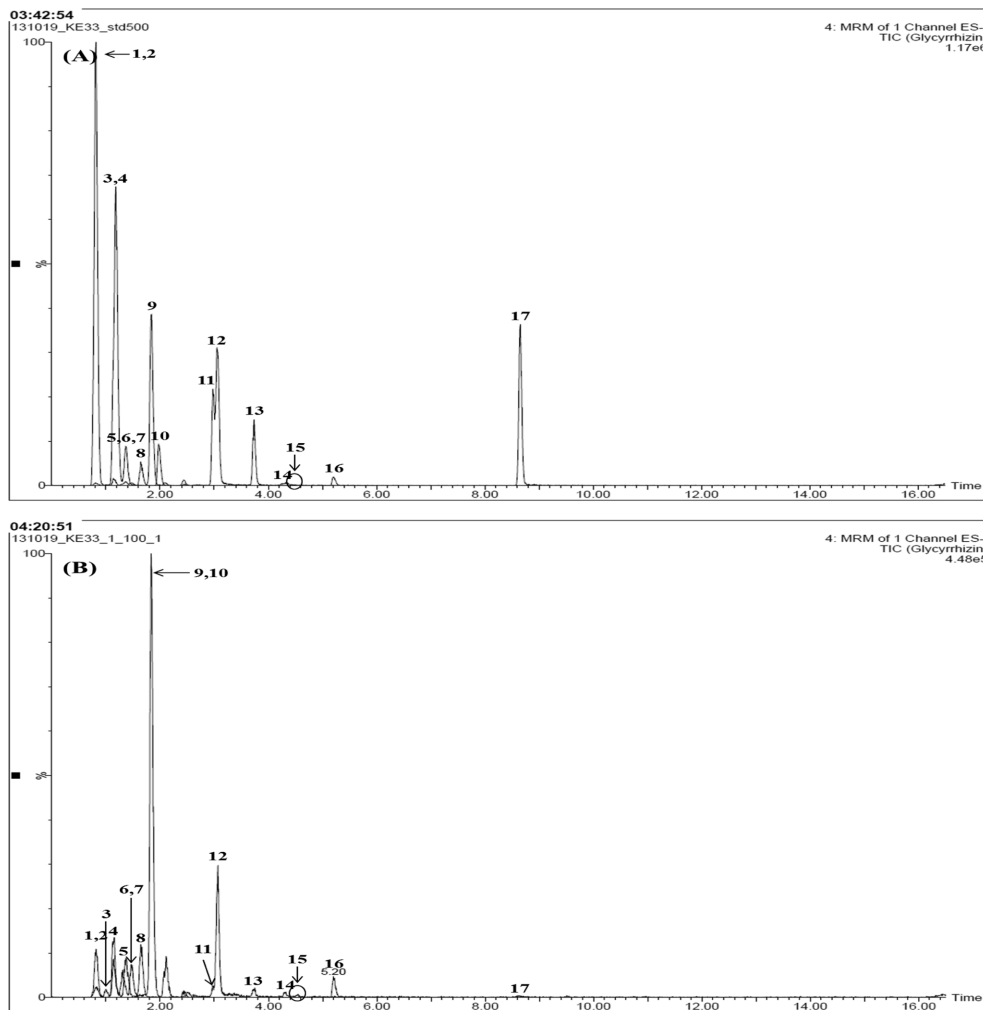


Fig. 2 – Total ion chromatograms of 17 reference compounds (A) and Dangguisu-san extract (B) by LC-MS/MS MRM mode. Boldine (1), norisoboldine (2), safflomin A (3), amygdalin (4), brazilin (5), paeoniflorin (6), albiflorin (7), liquiritin (8), nodakenin (9), sophoricoside (10), liquiritigenin (11), coumarin (12), cinnamic acid (13), juglone (14), cinnamaldehyde (15), glycyrrhizin (16), and nootkatone (17).

Table IV – Linearities, regression equation, correlation coefficients, LOD, and LOQ for 17 marker compounds

Compound	Linear range (ng/ml)	Regression equation ^a	Correlation coefficient	LOD ^b (ng/ml)	LOQ ^c (ng/ml)
Boldine	10-500	$y=136.02x+476.58$	0.9996	0.02	0.05
Norisoboldine	10-500	$y=36.41x+126.40$	0.9997	0.80	2.41
Safflomin A	10-500	$y=0.24x-2.71$	0.9951	3.85	11.55
Amygdalin	10-500	$y=2.50x-10.55$	0.9998	2.26	6.78
Brazilin	10-500	$y=0.56x-4.89$	0.9992	1.81	5.42
Paeoniflorin	10-500	$y=2.40x-4.87$	0.9998	5.29	15.87
Albiflorin	10-500	$y=14.80x-31.02$	1.0000	0.47	1.41
Liquiritin	10-500	$y=8.18x+1.88$	0.9999	1.20	3.60
Nodakenin	10-500	$y=63.24x-215.99$	0.9997	0.09	0.26
Sophoricoside	10-500	$y=14.86x+6.64$	1.0000	0.16	0.48
Liquiritigenin	10-500	$y=32.91x+13.73$	1.0000	0.16	0.48
Coumarin	10-500	$y=48.58x+179.06$	0.9996	0.26	0.77
Cinnamic acid	10-500	$y=19.87x+31.84$	0.9999	0.87	2.62
Juglone	10-500	$y=0.42x-2.60$	0.9960	0.33	1.00
Cinnamaldehyde	10-500	$y=1.18x-1.32$	0.9997	1.00	3.00
Glycyrrhizin	10-500	$y=3.35x-38.47$	0.9969	6.32	18.95
Nootkatone	10-500	$y=53.43x+76.08$	0.9999	0.08	0.24

^ay: peak area (mAU) of compounds; x: concentration (mg/mL) of compounds.

^bLOD=3×signal-to-noise ratio.

^cLOQ=10×signal-to-noise ratio.

safflomin A, amygdalin, brazilin, paeoniflorin, albiflorin, liquiritin, nodakenin, sophoricoside, liquiritigenin, coumarin, cinnamic acid, juglone, cinnamaldehyde, glycyrrhizin 및 nootkatone 등 17종에 대하여 ACQUITY TQD LC-MS/MS를 이용하여 정확성과 감도가 우수한 ESI 방법의 MRM 방법으로 함량분석을 실시하였다. 이동상으로는 물(A)과 아세트나이트릴(B)을 사용하여 성분의 분리 및 검출을 실시하였으며, tailing과 이온의 검출 감도를 높이고자 0.1%(v/v) 개미산을 추가하여 분석을 실시하였다. 이러한 조건을 토대로 주요 성분에 대한 분석을 실시한 결과 17종의 성분 중 10종은 양이온 모드에서 7종은 음이온 모드에서 10분 이내로 검출하였다(Table III 및 Fig. 2).

분석방법의 검량선, 검출한계 및 정량한계

LC-MS/MS를 이용하여 ESI 방법의 MRM 방식에서 17종 성분의 농도에 따른 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성한 결과 Table IV와 같이 상관 계수(r^2) 값이 0.9951 이상으로 양호한 직선성을 보여주었다. 또한 검출한계와 정량한계는 0.02~6.32 ng/ml와 0.05~18.95 ng/ml의 범위로 각각 나타났다(Table IV).

주요 성분의 피크 동정

확립된 LC-MS/MS 분석 방법에 의해 당귀수산의 주요 성분 에 대한 피크 확인을 실시하였다. 그 결과 boldine, norisoboldine, albiflorin, nodakenin, liquiritigenin, coumarin, cinnamic acid, juglone, cinnamaldehyde 및 nootkatone이 m/z 328.3, 314.3, 481.4, 409.4, 257.2, 147.1, 149.1, 175.1, 133.1 및 219.2에서 $[M+H]^+$ 형태의 분자이온 피크를 확인하였으며, safflomin A,

amygdalin, brazilin, paeoniflorin, liquiritin, sophoricoside 및 glycyrrhizin은 m/z 611.5, 456.4, 285.2, 479.4, 417.4, 431.3 및 821.9에서 $[M-H]^-$ 형태의 분자이온 피크를 각각 확인하였다(Table III).

LC-MS/MS를 이용한 주요 성분의 함량분석

당귀수산 물 추출물을 확립된 LC-MS/MS 분석법을 이용하여 17종의 성분 에 대한 함량 분석을 실시하였다. Table III과 Fig. 2에서 보듯이 boldine, norisoboldine, safflomin A, amygdalin, brazilin, paeoniflorin, albiflorin, liquiritin, nodakenin, sophoricoside, liquiritigenin, coumarin, cinnamic acid, juglone, cinnamaldehyde, glycyrrhizin 및 nootkatone 등 17종의 성분 들은 0.82, 0.82, 1.01, 1.17, 1.32, 1.39, 1.40, 1.65, 1.85, 1.99, 2.99, 3.06, 3.74, 4.23, 4.42, 5.20 및 8.64분에서 검출되었다. LC-MS/MS에서 정량분석을 위하여 모든 성분 에 대한 precursor ion과 product ion 설정은 다음과 같다. Boldine의 MRM 조건은 m/z 328.3(precursor ion)에서 C_2H_9NO 가 떨어진 $[M+H-C_2H_9NO]^+$ 형태의 m/z 265.1(product ion), norisoboldine은 m/z 314.3에서 NH_3 가 떨어진 $[M+H-NH_3]^+$ 형태의 m/z 297.2, safflomin A는 m/z 611.5에서 C_8H_8O 가 떨어진 $[M-H-C_8H_8O]^-$ 형태의 m/z 491.2, amygdalin은 m/z 456.4에서 C_8H_7NO 가 떨어진 $[M-H-C_8H_7NO]^-$ 형태의 m/z 323.0, brazilin은 m/z 285.2에서 $C_7H_6O_2$ 가 떨어진 $[M-H-C_7H_6O_2]^-$ 형태의 m/z 163.0, paeoniflorin은 m/z 479.4에서 $C_{16}H_{23}O_9$ 가 떨어진 $[M-H-C_{16}H_{23}O_9]^-$ 즉, [benzoic acid-H]⁻ 형태의 m/z 121.0, albiflorin은 m/z 481.4에서 glucose와 benzoic acid가 떨어진 $[M+H-Glu-benzoic acid]^+$ 형

Table V – Amount of the 17 marker compounds in Dangguisu-san

Compound	Amount ($\mu\text{g/g}$)			Source
	Mean	SD	RSD (%)	
Boldine	5.07	0.40	7.98	Linderae Radix
Norisoboldine	206.33	3.21	1.56	Linderae Radix
Safflomin A	8556.17	151.52	1.77	Carthami Flos
Amygdalin	5091.17	191.30	3.76	Persicae Semen
Brazilin	13224.50	297.41	2.25	Caesalpiniae Lignum
Paeoniflorin	5262.17	50.52	0.96	Paeoniae Radix Rubra
Albiflorin	1043.83	40.76	3.90	Paeoniae Radix Rubra
Liquiritin	2241.00	93.19	4.16	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
Nodakenin	2395.67	21.68	0.91	Angelicae Gigantis Radix
Sophoricoside	3.17	0.29	9.12	Carthami Flos
Liquiritigenin	94.17	2.75	2.92	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
Coumarin	818.17	5.39	0.66	Cinnamon Bark
Cinnamic acid	149.17	0.76	0.51	Cinnamon Bark
Juglone	13.50	0.50	3.70	Caesalpiniae Lignum
Cinnamaldehyde	1080.50	112.34	10.40	Cinnamon Bark
Glycyrrhizin	2251.83	13.58	0.60	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
Nootkatone	5.00	0.50	10.00	Cyper Rhizoma

태의 m/z 197.1, liquiritin과 sophoricoside은 m/z 417.4과 431.3에서 두 성분 모두 glucose 1분자가 떨어진 aglycone 형태의 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glu}]^-$ 형태로 m/z 255.2와 268.1, nodakenin 역시 m/z 409.4에서 glucose 1분자가 떨어진 $[\text{M}+\text{H}-\text{Glu}]^+$ 형태의 m/z 247.2, liquiritigenin은 m/z 257.2에서 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_8$ 가 떨어진 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_8]^+$ 형태의 m/z 137.0, coumarin은 m/z 147.1에서 2개의 CO 분자가 떨어진 $[\text{M}+\text{H}-2\text{CO}]^+$ 형태의 m/z 91.0, cinnamic acid와 cinnamaldehyde는 m/z 149.1과 133.1에서 두 성분 모두 1개의 물 분자가 떨어진 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 형태의 m/z 131.1과 115.0, juglone은 m/z 175.1에서 1개의 CO 분자가 떨어진 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$ 형태의 m/z 147.0, glycyrrhizin은 m/z 821.9에서 glucose 2분자가 떨어진 aglycon 형태의 $[\text{M}-\text{H}-2\text{Glu}]^-$ 형태의 m/z 351.2 및 nootkatone은 m/z 219.2에서 C_3H_6 과 메틸기가 떨어진 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6-\text{CH}_3]^+$ 형태의 m/z 163.1로 설정한 후 정량을 실시하였다. 그 결과 당귀수산 추출물 중 17종의 물질에 대한 함량은 3.17~13,224.50 $\mu\text{g/g}$ 으로 검출이 되었다(Table V). 그 중 소목의 주요 성분인 brazilin이 가장 많은 13,224.50 $\mu\text{g/g}$ 으로 검출이 되었으며, 홍화, 적작약 및 도인의 주요 성분인 safflomin A, paeoniflorin 및 amygdalin 등도 각각 8,556.17, 5,262.17 및 5,091.17 $\mu\text{g/g}$ 로 다른 성분들에 비하여 다량으로 함유되어 있었다.

결론

당귀, 적작약, 오약, 향부자, 소목, 홍화, 도인, 계피 및 감초 등 9종의 생약으로 구성된 당귀수산에서 17종 성분에 대하여 LC-MS/MS를 이용한 함량분석을 실시하였다. 분석 결과 소목, 홍화, 적작약, 도인, 감초, 당귀 및 계피의 주요 성분인 safflomin A, paeoniflorin, albiflorin, amygdalin, glycyrrhizin, liquiritin,

nodakenin 및 cinnamaldehyde 등이 다른 성분에 비해 다량 함유되어 있음을 확인하였다. 이러한 결과는 당귀수산의 품질관리를 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 '한약 처방의 과학적 근거 기반 구축사업 (K14030)'에 의해 수행되었으며 이에 감사 드린다.

References

- 1) Qiu, J. : Back to the future for Chinese herbal medicines. *Nat. Rev. Drug Discov.* **6**, 506 (2007).
- 2) Wang, L., Zhou, G. B., Liu, P., Song, J.H., Liang, Y., Yan, X. J., Xu, F., Wang, B. S., Mao, J. H., Shen, Z. X., Chen, S. J. and Chen, Z. : Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Realgar-Indigo naturalis as an effective treatment for promyelocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 4826 (2008).
- 3) 李 槿 : 新校 編註醫學入門, 대성문화사, 서울 p. 491, 630 (1996).
- 4) 윤용갑 : 東醫方劑와 處方解說, 의성당, 서울 p. 679 (2007).
- 5) 박영순 : 한방의 약리해설, 아카데미서적, 서울 p. 418 (2002).
- 6) Lyu, J. H., Kim, K. H., Kim, H. W., Cho, S. I., Ha, K. T., Choi, J. Y., Han, C. W., Jeong, H. S., Lee, H. K., Ahn, K. S., Oh, S. R., Sadikot, R. T., Christman, J. W. and Joo, M. : Dangkwisoo-san, an herbal medicinal formula, ameliorates acute lung inflammation via activation of Nrf2 and suppression of NF- κ B. *J. Ethnopharmacol.* **140**, 107 (2012).

- 7) Ahn, H. L., Shin, M. S., Kim, S. J. and Choi, J. B. : Effects of neutral *Eohyeol* (*Yuxue*) herbal acupuncture and Dangkisoo-san (Dangguixu-san) on fracture healing in the early stage in rats. *J. Oriental Rehab. Med.* **17**, 1 (2007).
- 8) Kim, K. H. : Effects of Dangkwisoosan on subcutaneous hematoma. *K. H. Univ. O. Med. J.* **8**, 23 (1985).
- 9) Kim, T. S. and Ahn, K. S. : Effect of Dangkwisoosan and Dodamtang on the intravascular coagulation induced by endotoxin in rat. *J. Korean Oriental Med. Pathol.* **3**, 91 (1988).
- 10) Kim, J. H., Park, S. H., Kim, Y. W., Ha, J. M., Bae, S. S., Lee, G. S., Cho, S. I., Choi, B. T. and Shin, H. K. : The traditional herbal medicine, Dangkwisoo-san, prevents cerebral ischemic injury through nitric oxide-dependent mechanisms. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* (2011) doi: 10.1155/2011/718302.
- 11) Yun, Y. J., Kim, K. L., Jin, M. H., Kang, Y. G., Nam, W. J. and Park, D. I. : A case report of tension type headache patient with Dangkisoo-san and acupuncture. *Herbal Formula Sci.* **21**, 204 (2013).
- 12) Kim, J. H. and Yoon, H. J. : Study of two cases for allergic purpura. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* **19**, 821 (2005).
- 13) Kim, E. G. and Cha, Y. Y. : A study on characteristics of skin resistance variability (SRV) in the traffic accident patients prescribed Dangkisoo-san (Dangguixu-san). *J. Oriental Rehab. Med.* **18**, 119 (2008).
- 14) Ryu, H. C., Kim, J. H., Park, J. B. and Shin, H. S. : A case study of Danggwisusan on severe contusion with functional disorder of liver and kidney. *Korean J. Oreint. Int. Med.* **25**, 361 (2004).