



## 국내 재배산 익모초의 품질관리 연구

한민우\*† · 박재성\* · 곽이성\* · 안희준\* · 서정범\*\* · 이영종\*\* · 박채규\*

\*한국인삼공사, \*\*가천대학교 한의과대학

## Studies on Quality Control of Domestic *Leonurus japonicus* Houttuyn

Min Woo Han\*†, Jae Sung Park\*, Yi Seong Kwak\*, Hee Jun Ahn\*, Jeong Bum Seo\*\*, Young Jong Lee\*\* and Chae Kyu Park\*

\*KGC Ginseng Research Institute, Daejeon 34128, Korea.

\*\*Collage of Korean Medicine, Gachon University, Seongnam 13120, Korea.

### ABSTRACT

**Background:** Leonurine is the aerial part of *Leonurus japonicus* Houttuyn, which has been used as a traditional medicine and is registered in the Korean Pharmacopoeia.

**Methods and Results:** In the present study we performed a heavy metals and thin layer chromatography and measured loss on drying, as well as the contents of total ash, acid-insoluble ash, ethanol soluble compounds, and leonurine, using 15 domestically collected *L. japonicus* samples. The methods were performed according to the 'crude drugs test of the general test, processes and apparatus', published by MFDS, Korea (2014). The purity test (heavy metals) indicated that levels of Pb and Hg were 0.35 - 3.64, and 0.001 ppm, respectively, whereas the levels of As and Cd were undetectable, and stachydrine was identified by thin layer chromatography ( $R_f$ : 0.15). We found that 5.93 - 10.62% (average:  $8.58 \pm 1.8\%$ ) of the sample mass was lost during drying, and the contents of total ash, acid-insoluble ash, ethanol soluble compounds, and leonurine were 7.87 - 10.84% (average:  $9.62 \pm 0.82\%$ ), 0.99 - 1.76% (average:  $1.38 \pm 0.24\%$ ), 16.70 - 23.11% (average:  $19.49 \pm 2.14\%$ ) and 0.04 - 0.17% (average:  $0.11 \pm 0.04\%$ ) respectively. In addition, HPLC profiling detected leonurine (5.94 min), rutin (16.43 min) and myricetin (26.78 min).

**Conclusions:** We hope that this the result of the present study will contribute to the standardization and quality control of Korean herbal medicines.

**Key Words:** *Leonurus japonicus* Houttuyn, HPLC Profiling, Leonurine, Myricetine, Quality Control, Rutin

### 서 언

익모초의 기원식물로 대한민국약전 (KP), 중국약전 (ChP), 일본약국방 (JP) 모두 익모초 (*Leonurus japonicus* Houttuyn) 로 수록되어 있다. 일본약국방 (JP)에는 *Leonurus japonicus* Houttuyn와 함께 *Leonurus sibiricus* L.가 추가되어 수록되어 있다. 채취시기에 있어서 대한민국약전 (KP)에 '꽃이 피기 전 또는 꽃이 필 때'로 되어 있다 (MFDS, 2014).

Lee (1982)에 의하면 익모초의 학명은 '익모초', *Leonurus sibiricus* L.로 되어있고, Lee (1996)에 의하면 *Leonurus*

*japonicus* Houttuyn와 *Leonurus sibiricus* auct Korea은 같은 '익모초'라 하여 같은 학명으로 취급하면서도, '*Leonurus sibiricus* L.는 잎의 열편이 가늘고 꽃이 큰 것으로 중국북부지역에서부터 시베리아까지 분포한다.'라고 언급 하였다. 그러나 일본약국방 (JP)에서는 '익모초', *Leonurus japonicus* Houttuyn와 *Leonurus sibiricus* L.를 서로 다른 식물로 인정하여 두 식물을 모두 공정서에 수재하고 있다.

익모초는 생리불순 산후회복에 쓰며, 부인에게 적합하다. 또한, 혈액순환개선을 통하여 구통, 어지러움, 기억력을 개선한다고 한다 (Shin and Shin, 2006). 또한 본초강목에서는 '충

†Corresponding author: (Phone) +82-42-870-3047 (E-mail) greenman@kgc.co.kr

Received 2016 October 20 / 1st Revised 2016 November 20 / 2nd Revised 2016 December 23 / 3rd Revised 2016 December 24 / Accepted 2016 December 24

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

울은 물에 가까운 습지에 번성하는 것으로, 초봄에 싹의 어린 잎과 같은 짝이 나고, 여름에 길이 3, 4척이 된다. 줄기는 사각으로 황마의 줄기와 같고, 잎은 애엽과 같이 배면이 푸르고, 1경 3엽으로 잎에 침기가 있다.'라고 수록되어 있다. 이 처럼 본초강목의 자세한 설명은 '익모초', *Leonurus japonicus* Houttuyn 또는 *Leonurus sibiricus* L.이라고 할 수 있다. 이것은 전초를 익모초, 충울이라 하여 옛 부터 산후의 요약으로 이용하고, 그 종자는 충울자라 하여 전초와 동일한 효능으로 이용하였다. 그러나 식품이약품안전처 (이하 식약처)에서는 익모초이 지상부 (전초)를 식품원료로 사용할 때는 제한적으로 사용하도록 허용하고 있다.

익모초는 점차 수요가 증가하는 품목으로 국내 재배량이 매우 적어 많은 부분 수입에 의존하고 있는 실정이다. 따라서, 국내 생산된 익모초의 경쟁력을 확보하기 위하여 현재 재배되고 있는 익모초의 품질수준을 모니터링하고 국내 설정되어진 품질기준을 비교조사하는 것이 필요하다.

익모초의 봄 파종은 4월 초순에 파종하여 이듬해 7-8월에 수확한다. 가을 파종은 8-9월에 파종하여 이듬해 7-8월 수확한다. 일반적으로 수확 후 농가에서는 증숙한 후 절단하여 건조한다.

익모초의 성분으로는 rutin과 leonurine, stachydrine, leonuridine 등이 분리 보고되어 있다 (Calis *et al.*, 1992; Sugiura *et al.*, 1969; Lee *et al.*, 2007). 현재 지표성분으로 대한민국약전 (KP) 익모초의 함량규격에 leonurine이 0.05% 이상으로 설정되어 있다.

이번 연구에서는 대한민국약전 (KP)에 품질관리 지표로 설정되어 있는 건조감량, 회분, 산불용성회분, 엑스함량을 조사하여 중국약전 (ChP)과 일본약국방 (JP)의 기준과 비교하였으며, 또한, 국내 재배 익모초의 중금속함량을 조사하였다. 나아가 thin layer chromatography (TLC) 확인시험법 개선사항과 high performance liquid chromatography (HPLC) 성분프로파일 등을 조사하여 익모초의 품질관리 할 수 있는 기본 자료를 확보하여 보고 하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시약 및 재료

실험에 사용한 재배품은 국내에서 생산되는 익모초 2년생으로 7-8월경에 수확된 익모초를 대상으로 영월에서 1구, 단양에서 3구, 금산에서 1구, 영천과 산청에서 각각 5구씩 총 15개 시료를 가천대학교 본초학교실에서 재배농가로부터 직접 수집하고 관능위원이 기원을 감별한 것을 제공받아 연구에 사용하였다 (Table 1).

시험에 사용된 TLC plate는 Silica Gel 60 F<sub>254</sub> (0.25 mm, Merk, Darmstadt, Germany)를 사용하였으며, 기기분석에 사용

**Table 1.** Sample collection of *Leonurus japonicus* Houttuyn.

Sample No.	Area		
1		Yeong-wol	
2			
3		Middle area	
4		Dan-yang	
5			
6	2 years (n = 15)	Geum-san	
7			
8		Gyeongsangbuk-do	Yeong-cheon
9			
10			
11			
12			
13		Gyeongsangnam-do	San-cheong
14			
15			

된 용매는 HPLC급 (Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. 시약은 모두 특급 시약을, 물은 HPLC용 (Merck, Darmstadt, Germany)을 구입하여 사용하였다. 정량에 사용되는 leonurine은 식약처에서 분양하는 leonurine 표준품 (leonurine-2009, MFDS, Cheongju, Korea)을 구매하여 사용하였다. 그리고 확인시험용 표준생약 (reference of medicinal plant materials, 익모초-LEJA2008)을 식약처로부터 분양 받아 사용하였다. 그리고 확인시험에 사용된 표준시약인 stachydrine HCl과 표준프로파일링에 사용되는 표준시약 rutin과 myricetin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)은 certified reference material (CRM) 혹은 reference material (RM) 표준품을 사용하였다. 분석용 가스는 고순도 (99.999% 이상)를 사용하였다. 중금속 시험에 표준용액은 한국표준과학연구원 (KRISS) 표준물질 을 사용하였다.

### 2. 중금속시험

중금속 시험은 대한민국약전 (KP)의 일반시험법 중 중금속 시험 방법에 따라 시험하였다 (MFDS, 2014). 시료추출에 사용된 기기는 초단파분해장치 ETHOS EASY (Milestone Systems, Brondby, Denmark)를 사용하였으며, Pb, As, Cd 측정은 Nexion 300D ICP-MS (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA)로, Hg은 수은분석기 DMA-80 (Milestone Systems, Brondby, Denmark)로 분석에 사용하였다.

### 3. 확인시험

익모초의 지표성분인 stachydrine HCl (C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>2</sub>)의 반점을 과 TLC패턴을 비교하기 위하여 대한민국약전 (KP) 일반시험법 중 박층크로마토그래피 방법에 따라 시험하였다

(MFDS, 2014). 검액 제조는 익모초시료와 익모초표준생약 3 g 을 달아 각각 methanol (MeOH)을 30 ml 를 넣고 1시간 초음파추출한 다음 여과한 액을 검액 및 익모초표준생약표준액으로 하였다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험하였다. 검액 및 익모초표준생약표준액 10  $\mu$ l씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적하였다. 다음에 *n*-butanol (BuOH):formic acid:물혼합액 (4:1:0.5)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 potassium-bismuth iodide (KBiI<sub>4</sub>) 시액을 고르게 뿌릴 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점은 익모초표준생약표준액에서 얻은 반점과 색상 및 R<sub>f</sub> 값이 같고, 그 중 R<sub>f</sub> 값 0.15 부근에서 stachydrine HCl의 반점을 확인하였다.

**4. 건조감량 시험**

건조감량시험은 대한민국약전 (KP) 일반시험법 중 생약시험방법에 따라 시험하였다 (MFDS, 2014). 익모초 가루를 2-6 g을 정확히 칭량하여 100°C에서 5시간 동안 건조하여 데시케이터에서 식힌 다음 항량이 될 때까지 건조시킨 후 그 감량을 측정하여 수분함량을 계산하였다. 시험에 사용장비는 Mechanical Convection VS-1202DS3 (Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea)을 사용하였다.

**5. 회분 및 산불용성회분 시험**

회분 및 산불용성회분시험은 대한민국약전 (KP) 일반시험법 중 생약시험방법에 따라 시험하였다 (MFDS, 2014). 익모초 가루시료를 도가니에 넣고 회화로에 옮겨 600 ± 25°C에서 5-6시간 가열하여 백색 및 회백색의 회분이 얻어질 때 까지 가열하였다. 회화가 끝난 후 그대로 식혀 온도가 약 200°C 로 되었을 때 데시케이터에 옮겨 식힌 후 칭량하여 회분함량을 계산하였다. 얻어진 회분에 묽은 염산 (0.1 N HCl) 25 ml 을 조심하여 넣고 5분간 약한 열로 끓여 불용물을 정량용 여과지로 여과하여 잔류물을 열탕으로 잘 씻어 여과지와 함께 건조한 다음 회분함량과 같은 방법으로 3시간 가열하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 질량을 정밀하게 칭량하여 산불용성회분 함량 (%)으로 하였다. 시험에 사용 장비는 WiseTherm digital muffle furnace F-05 (Daehan Scientific Co., Wonju, Korea) 와 Mechanical Convection VS-1202DS3 (Vision Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea)을 사용하였다.

**6. 엑스함량 시험**

엑스함량시험은 대한민국약전 (KP) 일반시험법 중 생약시험 묽은에탄올엑스 시험방법에 따라 시험하였다 (MFDS, 2014). 익모초 가루시료 약 2-3 g을 칭량하여 플라스크에 넣고 묽은 에탄올 (50% ethanol) 70 ml 을 넣어 때때로 흔들어 섞어 5시간 침출하였다. 다시 16-20시간 방치한 다음 여과하여, 플

라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml로 될 때까지 묽은 에탄올로 씻었다. 여액 50 ml를 water bath에서 증발건고 하고 105°C에서 4시간 건조하여 데시케이터에서 식힌 다음 그 질량을 정확히 칭량하고 2를 곱하여 묽은 에탄올엑스의 양으로 계산하였다.

**7. Leonurine 정량시험**

익모초의 leonurine (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) 정량은 대한민국약전 (KP)에 수록된 방법에 의하여 실험을 실시하였다 (MFDS, 2014). 먼저 익모초 가루 약 1 g을 70% MeOH을 50 ml 를 넣고 1시간 초음파추출한 다음 0.45  $\mu$ m, syringe filter로 여과하여 검액으로 하였다. 그리고 leonurine 표준품 약 10 mg 을 70% MeOH을 100 ml 에 녹인다음 10 ml 을 취하여 70% MeOH을 첨가하여 100 ml 으로 맞춘 용액을 표준검액으로 하였다. 이렇게 만들어진 검액과 표준검액을 HPLC에 10  $\mu$ l 씩 주입하여 분석하였다. 이때 사용한 컬럼은 Sunfire C<sub>18</sub> 5  $\mu$ m, 4.6 × 250 mm (Waters, Milford, MA, USA)을 사용하여 분리하였다.

**8. HPLC 표준크로마토그램 시험**

HPLC 표준크로마토그램 작성을 위하여 식약처에서 고시한 ‘생약 (한약)제제의 성분프로파일 설정가이드라인’을 참조하여 시험하였다 (MFDS, 2010). 사용 장비는 HPLC (Waters Alliance 2795 system, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였으며, 시료추출은 초음파추출장치 (Bransonic 8510E-DTH/250 W, 44 kHz, Branson Co., Danbury, CT, USA)을 사용하였다. HPLC 분석조건은 Table 2에 나타내었다.

검액의 제조는 익모초 전초의 가루 0.5 g을 정확히 달아 70% MeOH과 100% MeOH을 사용하여 추출하였으며, 두 추

**Table 2.** Condition of HPLC analysis.

Instrument	Waters Alliance 2795 system + PDA	
Column	Sunfire C <sub>18</sub> 5 $\mu$ m, 4.6 × 250 mm	
Mobile Phase	A: 0.1% formic acid in water	
	B: 0.1% formic acid in ACN	
	Time (min)	Solution B (%)
	2	5
	16	20
	18	40
	20	50
	25	95
	30	5
Detector	UV 270 nm	
Column Temperature	30 °C	
Injection Volume	10 $\mu$ l	
Flow rate	1.0 ml/min	

출액을 비교하여 70% MeOH을 추출용매로 선정하였다. 이와 같이 선정된 70% MeOH을 50 ml을 넣고 30, 60, 90 분을 비교 검토하여 60분으로 설정하였으며, 1회 초음파 추출하였다. 추출액을 여과지로 1차 여과 한 후 0.45 µm, syringe filter로 여과하여 검액으로 사용하였다. 최적의 분리조건을 얻기 위하여 휘발성염인 formic acid을 0.1% 첨가한 물과 acetonitrile (ACN)로 용매구배를 주어 분리하였다. 분석에 사용된 UV과 장은 210 nm, 254 nm, 270 nm, 365 nm을 비교 검토하여 270 nm로 설정하였고, 검액 조제시 분석컬럼의 경우 4.6 × 250 mm (5 µm)와 3.9 × 150 mm (4 µm)를 비교 검토하여 4.6 × 250 mm (5 µm)를 선정하여 분석조건을 설정하였다 표준용액으로는 식약처로부터 분양받은 leonurine 표준품과 myricetin, rutin을 1 mg을 취하여 70% MeOH을 10 ml에 녹여 표준용액으로 하였다.

9. 통계처리

모든 실험결과 (n = 3)은 3반복하여 평균값과 표준오차로 나타내었다. Student's t-test에 의해 유효성을 검증하였으며 각 시료와 비교하여 p < 0.05 이상인 것을 유의성이 있는 것으로 인정하였다. 사용된 통계프로그램은 SPSS ver. 12.0 (statistical package for social science ver 12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

1. 중금속

익모초의 중금속의 대한민국의약전 (KP) 기준은 As의 경우 3 ppm, Cd의 경우 0.3 ppm, Pb의 경우 5 ppm 그리고 Hg의 경우 0.2 ppm으로 설정 되었다. 중금속시험은 품질이 안전한 생약재 확보를 위하여 실시하였으며, 또한, 광범위하게 오염되어 있을지 모르는 토양오염으로부터 재배환경이 얼마나 안전한가를 알아보기 위하여 시험을 실시하였다. 이번 연구에서 측정된 재배품의 중금속은 Pb는 0.35 - 3.64 ppm로 기준치 5 ppm

Table 3. Result of heavy metals test of *Leonurus japonicus* Houttuyn.

No.	As (ppm)	Cd (ppm)	Pb (ppm)	Hg (ppm)
1	—*	—	0.45	0.001
2	—	—	0.70	0.001
3	—	—	0.45	0.001
4	—	—	0.40	0.001
5	—	—	0.45	0.001
6	—	—	0.54	0.001
7	—	—	3.64	0.001
8	—	—	0.35	0.001
9	—	—	0.70	0.001
10	—	—	0.74	0.001
11	—	—	0.79	0.001
12	—	—	0.70	0.001
13	—	—	0.70	0.001
14	—	—	0.70	0.001
15	—	—	0.70	0.001

—; not detected. Sample values are means (n = 3). Statistical analysis were conducted by Student's t-test (n = 3). Sample 1; Yeong-wol, sample 2 - 4; Dan-yang, sample 5; Geum-san, sample 6 - 10; Yeong-cheon, sample 11 - 15; San-cheong.

이하로 검출되었으며, Hg는 0.001 ppm이 검출되었으나 대한민국의약전의 중금속 기준에 적합한 것으로 측정되었다. 그리고 As, Cd은 모든 시료에서 검출되지 않았다. 하지만 Pb과 Hg의 경우 전 시료에서 기준이하로 검출되고 있어 추후로도 지속적인 모니터링 연구가 필요할 것으로 사료된다 (Table 3).

2. 확인시험

익모초 재배품 15개 시료의 TLC 전개 결과 익모초표준생약과 같은 반점을 확인 할 수 있었고, stachydrine HCl을 R<sub>f</sub> 값이 0.15인 부근에서 확인하였다.

그러나 기존 TLC확인시험 방법에 따라 시험을 할 경우 stachydrine HCl과 확인해야 할 다른 반점이 매우 흐리게 나타나 확인하기 어려웠다. 따라서 명확한 stachydrine HCl의 반점

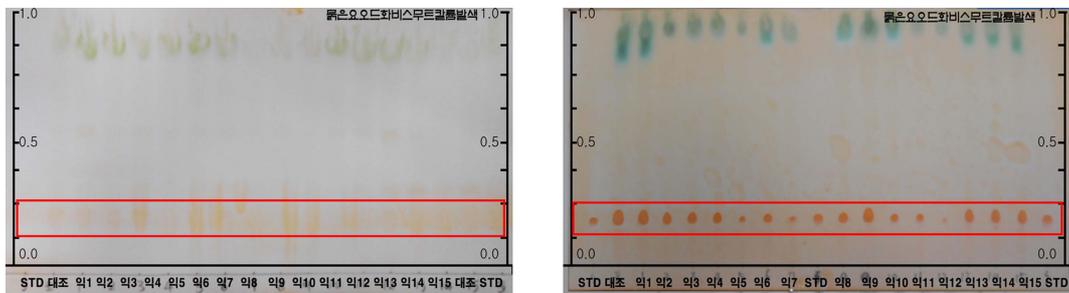


Fig. 1. Thin layer chromatography pattern of standard and 70% MeOH extracts in *Leonurus japonicus* Houttuyn (by potassium-bismuth iodide treatment). STD; stachydrine HCl, S; reference of medicinal plant materials. Sample 1; Yeong-wol, sample 2 - 4; Dan-yang, sample 5; Geum-san, sample 6 - 10; Yeong-cheon, sample 11 - 15; San-cheong.

을 확인하고자 기존 추출방법을 변경하여 시험을 실시하였다. 기존 추출된 검액을 다시 증발건고 시킨 후 메탄올 1 ml로 녹여 박층크로마토그램을 실시하였을 때 기존방법에 비하여 명확한 stachydrine HCl의 반점을 확인 할 수 있었다 (Fig. 1).

점적량을 증가시키는 방법도 고려하였으나 실험자의 개인적인 차이에 따라 실험결과가 다르게 나타날 수 있어 재현성 있는 시험결과를 만들 수 있는 시험방법을 제안하기 위하여 추출시료를 증발건고하는 방법을 선택하였다. 따라서 기존 대한민국의약전에서 제시한 익모초의 확인시험 방법보다 개선된 방법에 따라 시험하게 되면 재현성 있는 명확한 stachydrine HCl의 반점을 확인할 수 있을 것으로 사료된다.

### 3. 이화학적 특성

익모초의 건조감량은 식약처 대한민국의약전 (KP)와 일본의약국방 (JP)에 모두 13.0% 이하로 설정되어 있으며, 중국의약전 (ChP)에는 12.0% 이하로 설정되어있다 (MFDS, 2014; CFDA, 2010; MHLW, 2011). 이번 연구결과 국내산 익모초는 5.93 -

10.62% 이하로 평균  $8.58 \pm 1.8\%$  측정되었다. 회분함량의 경우 대한의약전 (KP)과 일본의약국방 (JP)에 모두 10.0% 이하로 설정되어 있으며, 중국의약전 (ChP)에는 11.0% 이하로 설정되어 있다.

측정결과 중부지역에서 생산된 4개의 시료가 대한민국의약전 (KP) 회분 기준을 약간 넘는 것으로 측정되었다. 그러나 중국의약전 (ChP) 규격에는 모두 적합한 것으로 측정되었다. 기준을 초과한 4개를 제외한 나머지 시료는 평균  $9.62 \pm 0.82\%$ 로 측정되어 대한민국의약전 (KP) 기준에 적합한 것으로 나타났다. 산불용성회분에 있어서는 대한민국의약전 (KP)과 일본의약국방 (JP)에 2.0% 이하로 설정되어 있다. 측정결과 0.99 - 1.76%로 모든 시료에서 평균  $1.38 \pm 0.24\%$ 로 대한민국의약전 (KP) 기준을 초과하지 않았다.

위 결과로 보아 국산 익모초의 가공품질의 있어 일본과 중국의 품질기준과 비교하였을 때 대등한 수준으로 가공되고 있는 것으로 사료된다. 엑스함량의 경우 대한민국의약전 (KP)에는 8.0% 이상, 일본의약국방 (JP)에는 12.0% 이상으로 일본의 품질 기준이 높게 설정되어있다. 국내에서 수집된 재배 익모초 시료 15개의 묶은 에탄올엑스함량을 측정한 결과 16.70 - 23.11%로 평균  $19.49 \pm 2.14\%$ 로 15개 시료간 고른 묶은 에탄올엑스함량을 확인할 수 있었으며, 대한민국의약전 (KP) 기준을 모두 만족하였다. 이 결과로 미루어보아 수입산 익모초와 비교하여 높은 품질경쟁력이 있을 것으로 사료된다 (Table 4).

**Table 4.** Chemical characteristics of *Leonurus japonicus* Houttuyn.

No.	Loss of dring (%)	Total ash (%)	Acid insoluble (%)	Contents of ethanol soluble extracts (%)*	Leonurine (%)
1	7.72	10.04	1.76	18.10	0.13
2	6.27	8.80	0.99	18.20	0.05
3	5.93	10.84	1.64	23.11	0.17
4	8.67	10.66	1.50	17.70	0.13
5	8.10	10.63	1.23	17.30	0.12
6	9.48	9.35	1.60	21.50	0.08
7	8.91	7.87	1.36	16.70	0.04
8	7.31	9.82	1.65	20.70	0.07
9	9.25	9.98	1.42	17.00	0.13
10	7.96	9.77	1.65	19.90	0.13
11	8.71	9.88	1.36	17.50	0.09
12	9.64	9.94	1.16	23.00	0.09
13	10.62	8.89	1.11	20.7	0.12
14	9.90	9.11	1.26	20.00	0.12
15	10.23	8.78	1.06	20.9	0.12
Mean	$8.58 \pm 1.38$	$9.62 \pm 0.82$	$1.38 \pm 0.24$	$19.49 \pm 2.14$	$0.11 \pm 0.04$
RSD	16.03	8.53	17.66	11.00	33.03

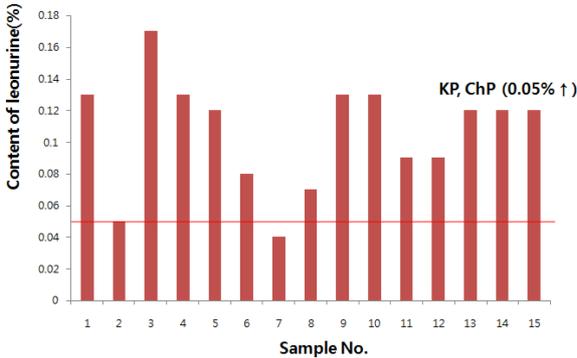
Sample values are means (n = 3) and all sample are means  $\pm$  SD (n = 3). Statistical analysis were conducted by Student's t-test (n = 3). Sample 1; Yeong-wol, sample 2 - 4; Dan-yang, sample 5; Geum-san, sample 6 - 10; Yeong-cheon, sample 11 - 15; San-cheong. \*Contents of ethanol soluble extration; sample extracted with 50% EtOH. RSD; Relative standard deviation.

### 4. Leonurine 정량

익모초의 지표성분은 leonurine으로 설정되어 있으며 leonurine의 함량은 대한민국의약전 (KP)에 0.05% 이상으로 설정되어 있고 중국의약전 (ChP)에는 leonurine이 0.05%으로 설정되어 있다 (MFDS, 2014; CFDA, 2010).

국내 재배되어 가공되어진 익모초 15개에 대하여 익모초 시료의 leonurine의 함량은 0.04 - 0.17%으로 평균  $0.11 \pm 0.04\%$ 로 나타났으며 측정된 결과 익모초 1개의 시료를 제외한 나머지 시료들은 대한민국의약전 (KP) 기준규격 보다 높게 측정되었다 (Table 4). 이러한 결과는 Hong 등 (2001)의 연구결과에 의하면 평균  $0.124 \pm 0.06\%$  (n=3)의 결과와 유사한 결과를 나타냈다. 그러나 지표성분의 함량이 균일하지 않고 시료 간 많은 차이를 확인할 수 있었다 (Fig. 2). 따라서 이는 지역적인 차이에서 오는 것보다는 재배방법 대한 차이에서 발생하는 것으로 사료된다. 따라서, 품질이 균일한 익모초에 대한 재배 방법에 대한 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

또한, 국내 대한민국의약전 (KP)에는 leonurine에대한 지표만을 품질지표로 설정하고 있다. 그러나 중국의약전 (ChP)에서는 stachydrine HCl이 0.5%이상으로 설정하고 있다. stachydrine은 꿀풀과 식물의 잎이나 줄기에 함유되어있는 alkaloid 화합물로 항암작용과 부교감신경계에 작용하며 진정, 발한작용이 있는 것으로 알려진 화합물로 익모초의 효능물질이다 (Hong



**Fig. 2.** Leonurine content of *Leonurus japonicus* Houttuyn. Sample 1; Yeong-wol, sample 2 - 4; Dan-yang, sample 5; Geum-san, sample 6 - 10; Yeong-cheon, sample 11 - 15; San-cheong. KP and ChP; leonurine is not less than 0.05%. Each bar represents the mean (n = 3). Statistical analysis were conducted by Student's t-test (n = 3).

et al., 2001). 따라서 익모초의 stachydrine의 함량도 품질을 평가할 수 있는 중요한 지표가 될 것으로 사료되며, 앞으로 stachydrine의 함량기준에 대한 심도있는 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

### 5. HPLC 표준크로마토그램

익모초에는 익모초의 성분으로는 leonurine, stachydrine, leonuridine, rutin 등이 분리 보고되었으며 (Calis et al., 1992; Sugiura et al., 1969) 익모초에서 주요성분으로 rutin과 leonurine이 보고되어 있다 (Hong et al., 2001).

익모초의 시료의 품질관리방법으로 성분프로파일 연구를 수행하였다. 5.94분에 leonurine, 16.43분에 rutin과 26.78분에 myricetin의 피크를 확인하였고 이들 성분을 중심으로 성분프로파일을 작성하였다 (Fig. 3).

관측된 피크의 반복성을 확인하기 위하여 시료를 한 개의 로트에서 6회 반복하여 추출하고 측정하였으며, 측정된 피크 중 leonurine 피크를 기준으로 rutin과 myricetin의 상대유지 시간 (relative retention time, RRT)과 상대적면적 (relative peak area, RPA)를 계산하였다. 유지시간과 면적, 상대유지시

간 및 상대면적의 평균, 표준편차와 상대표준편차를 계산하여 적합한 반복성을 보이는지 확인 한 결과 RT과 RRT 그리고 RA와 RPA값 모두 RSD < 6%로 높은 반복성을 가진 것을 확인 하였다. 그리고 익모초 재배품 15개 시료의 chromatogram상의 유사성과 차이를 알아보기 위하여 각 15개 시료의 chromatogram을 중첩하여 chromatogram의 pattern의 차이를 확인한 결과 모든 익모초시료의 chromatogram이 유사한 것으로 확인 되었다.

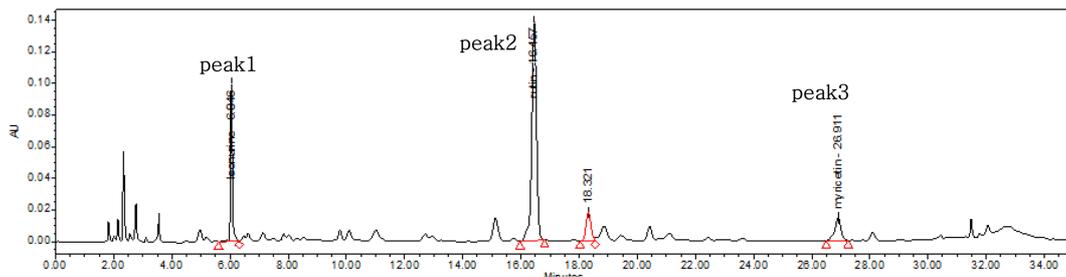
위의 연구결과에서 얻은 leonurine, rutin과 myricetin의 성분들을 이용하여 국내에서 생산되는 익모초를 측정하므로써 생약재 및 생약제제 개발 등에 있어 이화학적동등성확인 혹은 품질관리방법에 현업에 많은 도움이 될 것이라고 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처의 국산한약재규격재 평가 연구개발과제(과제번호: 12172MFDS990) 연구비 지원에 의하여 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Calis I, Ersoz T, Tasdemir D and Ruedy P. (1992). Two phenylpropanoid glycosides from *Leonurus glaucescens*. Phytochemistry. 31:357-359.
- China Food and Drug Administration(CFDA). (2010). The pharmacopoeia of the people's republic of China. China Food and Drug Administration. China Medical Science Press. Beijing, China. p.248-249.
- Hong SS, Hwang JS, Lee SA, Hwang BY, Ha KW, Ze KR, Seung RS, Ro JS and Lee KS. (2001). Isolation and quantitative analysis of leonurine from Leonuri herba. Korean Journal of Pharmacognosy. 32:322-326.
- Lee CB. (1982). Illustrated book of Korea plant. Hyangmunsa. Seoul, Korea. p.651.
- Lee SW, Kim GE, Chung SH, Kim SG, Kim DH, Kim JH, Kim HK and Whang WK. (2007). Study on the seasonal and regional variation of rutin content of Leonuri herba. Archives of Pharmacal Research. 51:157-163.
- Lee WC. (1996). Coloured standard illustrations of Korean plants. Academy Book. Seoul, Korea. p.812.



**Fig. 3.** HPLC chromatogram of *Leonurus japonicus* Houttuyn (UV 270 nm). Peak 1; leonurine. Peak 2; rutin. Peak 3; myricetin.

- Ministry of Food and Durg Safety(MFDS).** (2010). The Korean herbal medicinal products sandard chemical profile guideline. Ministry of Food and Durg Safety. Cheongju, Korea. p.7-23.
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS).** (2014). The Korean pharmacopoeia(11th ed.). Ministry of Food and Drug Safety. Cheongju, Korea. p.55-88.
- Minister of Health Labour and Welfare(MHLW).** (2011). The Japanese pharmacopoeia(16th ed.). Minister of Health Labour and Welfare. Tokyo, Japan. p.1682.
- Sugiura S, Inoue S, Hayashi Y, Kishi Y and Goto T.** (1969). Structure and synthesis of leonurine. Tetrahedron. 25:5155-5161.
- Shin JH and Shin YW.** (2006). Illustrated book of medicinal herbs from hyang-yak-jip-seong-bang. Keimyung University Press. Daegu, Korea. p.33-34.