생약 학회지 Kor. J. Pharmacogn. 48(4): 343 ~ 349 (2017)

# 택사의 Alisol B, Alisol B acetate 함량과 안정성

백미은<sup>1</sup> · 이영종<sup>2</sup> · 원재희<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한약진홍재단, <sup>2</sup>가천대학교 한의과대학

## Content and Stability of Alisol B, Alisol B acetate in Alismatis Rhizoma

Mi Eun Baek<sup>1</sup>, Young Jong Lee<sup>2</sup> and Jae Hee Won<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>National Development Institute of Korean Medicine, Gyeongbuk 38540, Korea <sup>2</sup>College of Korean Medicine, Gachon University, Seongnam 13120, Korea

**Abstract** – The current definition of Arismatis Rhizoma is the tuberous root of *Alisma orientale* Juzepzuk in the Korean Pharmacopoeia, but there is still no marker compound. So it has difficulties in quality control. Therefore, in this study, we have established a method to analyze alisol B and alisol B acetate using HPLC as a marker compounds of Arismatis Rhizoma. As the result of the analysis, alisol B content was ranged from 0.02% to 0.50% and alisol B acetate content was ranged from 0.12% to 0.25% in 40 samples. The stability of alisol B and alisol B acetate was investigated during 24 months. As a result, alisol B acetate was significantly decreased. The marker compound of Arismatis Rhizoma is alisol B acetate and the content of 0.05% or more is suitable by applying the stability results.

Keywords - Alisma orientale Juzepzuk, Alisol B, Alisol B acetate, HPLC-PDA and Stability

택시는 늪이나 연못에서 자라는 여러해살이 풀로 국내에는 질경이택사 Alisma plangtago-aquatica var. orientale Samuels. (Alisma orientale Juzep.)와 택사 Alisma canaliculatum All. Br. et. Bouche 의 두종류가 분포하며 질경이택사는 2배체 (2n=14), 택사는 6배체(2n=42)로 다른 유전적 특성을 가지는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 이들은 외관상 모양이 비슷하지만 잎 모양이 둥근모양과 피침형으로 구별이 가능하다고 한다.<sup>2)</sup> 우리나라를 비롯한 중국, 일본 공정서에서는 택사를 질경이 택사 Alisma orientale Juzepzuk(택사과 Alismataceae)의 덩이줄기로서 잔뿌리 및 주피를 제거한 것으로 동일하게 정의하고 있다.

2015년 약용작물 지역별 생산현황에 따르면 택사는 전남 지역의 순천, 무안, 구례에서 전국 생산량의 97%를 차지하는 38만톤이 생산되었고, 그 외는 경북지역에서 생산되었다. 식 품의약품안전처의 의약품용 한약재 제조 실적보고에 의하 면 택사의 2016년 제조 생산실적은 145,870 kg이었다.

한의약에서 택사는 이소변(利小便), 청습열(淸濕熱), 소변 불리(小便不利), 수종창만(水腫脹滿) 및 고지혈증(高脂血症) 등에 처방하는 것으로 알려져 있고,<sup>3)</sup>약리활성에 관한 연구는 항암,  $^{4\cdot 6)}$  항생,  $^{7.8)}$  항당뇨,  $^{9.10)}$  항산화 $^{11,12)}$  및 항염 $^{13,14)}$  등의 효 능으로 다양하게 보고되고 있다. 특히, 효능을 나타내는 주요 물질은 alisol B acetate  $^{15\cdot 17)}$ 로 알려져 있으며 alisol B acetate 등 의 triterpenoid 화합물의 함량 분석법에 관한 연구 $^{18\cdot 20)}$ 도 활발히 진행되고있다.

중국약전에 택사의 함량기준은 alisol B acetate 0.040% 이상으로 규정되어 있으나, 대한민국약전에는 택사의 지표 성분 및 함량기준이 설정되어 있지 않아 표준화 및 품질관리의 어려움이 있다.

본 연구는 택사의 지표성분을 alisol B 및 alisol B acetate로 설정하고자 이에 대한 분석법을 HPLC를 사용하여 정립하고 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인에 따라 시험법의 유효성을 검토하였다. Alisol B 및 alisol B acetate 함량기준 설정을 위해 국내에서 유통되고 있는 국내산 35 건과 중국산 5건으로 총 40건을 수집하여 이에 대한 alisol B 및 alisol B acetate의 함량을 측정하였다. 규격품 한약재의 경우 포장외부에 생산 년도가 아닌 제조 년도를 표기하여 유통하고 있으므로 지표성분의 안정성 검토를 위해서는 유통 한약재를 제외한 전남지역 재배 1년생 택사만을 실온에서 24개월 동안 보관하며 alisol B 및 alisol B acetate의 함량 변화를 조사하였다. 이를 택사의 지표성분 및 함량 기준 설정을 위한 기초자료로 제공하고자 한다.

\*교신저자(E-mail): won10042@nikom.or.kr (Tel): +82-53-810-0370 344 Kor. J. Pharmacogn.

## 재료 및 방법

실험재료 - 본 연구에 사용한 시료는 가천대학교 이영종 교수연구실에서 기원감별을 위한 관능검사를 수행하고 적합한 시료를 제공받아 사용하였다. 국내에서 유통되는 국내산 35건과 중국산 5건으로 총 40건이었으며, 성분의 안정성검토를 위한 시료는 생산연도가 명확한 전남지역에서 재배한 1년생 택사 15건을 사용하였다. 제공받은 시료는 분쇄기를 사용하여 조말(粗末)로 분쇄한 후 18호(850 µm)체로 균질화하고 밀폐하여 실온에 보관하면서 실험에 사용하였다(Table I).

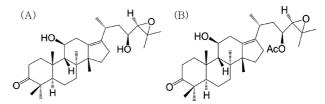
시약 및 기기 - 검액 제조 및 성분분석에 사용된 아세토 니트릴은 HPLC 등급으로 Merck(Germany)사의 제품을 사용하였으며, 지표성분 표준품으로 사용한 alisol B 및 alisol B acetate는 Wako(Japan)사에서 순도 98% 이상의 것을 구 대하여 사용하였다(Fig. 1). 성분 추출에는 KODO(Korea)사의 JAC-5020 초음파 추출기를 사용하였고, 분석기기는 Waters(USA)사의 2998 PDA, 2695 separation module의 HPLC를 사용하였다.

**검액 및 표준액 제조** - 검액의 제조는 Lee 등의<sup>20)</sup> HPLC를 이용한 택사의 품질 평가에 대한 보고결과를 참조하였으며, 택사가루 0.5 g을 정밀하게 달아 아세토니트릴 10 ml을 넣은 후 50 °C에서 30 분간 2 회 초음파 추출하여 여과한 여액을

Table I. Sample collection of Arismatis Rhizoma

No.	Area	No.	Area
Sample 1	Korea	Sample 21	Korea
Sample 2	Korea	Sample 22	Korea
Sample 3	Korea	Sample 23	Korea
Sample 4	Korea	Sample 24	Korea
Sample 5	Korea	Sample 25	Korea
Sample 6	Korea	Sample 26	Korea
Sample 7	Korea	Sample 27	Korea
Sample 8	Korea	Sample 28	Korea
Sample 9	Korea	Sample 29	Korea
Sample 10	Korea	Sample 30	Korea
Sample 11	Korea	Sample 31	Korea
Sample 12	Korea	Sample 32	Korea
Sample 13	Korea	Sample 33	Korea
Sample 14	Korea	Sample 34	Korea
Sample 15	Korea	Sample 35	Korea
Sample 16	Korea	Sample 36	China
Sample 17	Korea	Sample 37	China
Sample 18	Korea	Sample 38	China
Sample 19	Korea	Sample 39	China
Sample 20	Korea	Sample 40	China

Sample 1~15 were tested stability of alisol B and alisol B acetate.



**Fig. 1.** Chemical structures of marker compounds. (A) Alisol B, (B) Alisol B acetate.

Table II. HPLC conditions established for analysis of Alismatis Rhizoma

Wavelength	UV 207 nm		
Column	Waters Nova-pack C18 (3.9 $\times$ 150 mm, 5 $\mu$ m)		
Oven Temperature	35 °C		
Injection Volume	10 μl		
Flow rate	1.0 ml/min		
Mobile Phase	A: Water, B: Acetonitrile		
	Time (min)	Solution B (%)	
	0	45	
	20	50	
	30	50	
	<u> </u>	_	

증발건고한 다음 그 잔류물을 아세토니트릴 2 ml에 녹여 0.45 μm syringe filter로 여과하여 검액으로 하였다. 또한, alisol B 및 alisol B acetate를 각각 약 10 mg을 정밀하게 달아 아세토니트릴 100 ml에 녹여 표준액으로 사용하였다.

HPLC 분석 조건 - Alisol B 및 alisol B acetate 함량분석을 위한 HPLC의 고정상은 Waters사 Nova-pack C18(3.9 × 150 mm, 5 μm) 칼럼을 사용하였고, 이동상은 물과 아세토 니트릴을 사용하여 이동상 조성을 시간에 따라 변화시키는 기울기 용리를 사용하였다(Table II).

분석법 밸리데이션 – HPLC-PDA를 사용한 택사의 지표 성분 alisol B 및 alisol B acetate의 분석법을 확립하고 이를 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인에 따라 분석법 밸리데이션을 실시하였다. Alisol B 및 alisol B acetate 표 준액을 사용하여 특이성(specificity), 정확성(accuracy), 정밀성(precision), 직선성(linearity), 범위(range), 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)을 측정하여 분석법의 타당성을 확보하였다.

특이성(specificity) – 분석 성분에 대하여 특이적이고 식별성을 가진 방법임을 검증하기 위해 피크가 확실하게 분리됨을 확인하였고, photo diode array(PDA)로 성분의 단일성 여부도 확인하였다.

정확성(accuracy) 및 정밀성(precision) – 정확성은 시료에 각 표준액을 100 μg/ml 농도로 첨가하여 회수율로 검토하 였으며, 정밀성은 동일한 시료를 6회 반복 측정하여 상대표 준편차로 확인하였다.

직선성(linearity) 및 범위(range) — 각각의 성분을 10, 50, 100, 250, 500  $\mu g/ml$  농도로 표준액을 제조하고 이를 확립된 분석법을 이용하여 검량선을 작성하였으며, 검량선으로 부터 직선식의 상관계수(correlation coefficient,  $R^2$ )를 구하여 직선성과 범위를 확인하였다.

검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) – 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 방법으로, 표준용액을 사용하여 작성된 검량선을 다음의 식에 따라 계산하여 검출한계와 정 량한계를 확인하였다.

$$LOD = 3.3 \times \sigma/S$$
,  $LOQ = 10 \times \sigma/S$ 

o는 반응의 표준편차이고 S는 검량선의 기울기를 말한다. 택사의 alisol B 및 alisol B acetate의 함량 분석 - 택사의 지표성분 설정을 위한 시료는 국내에서 유통되는 국내산 35건과 중국산 5건으로 총 40건이며 이에 대해 확립된 HPLC-PDA 분석법으로 alisol B 및 alisol B acetate의함량을 측정하였다.

보관기간에 따른 alisol B 및 alisol B acetate 성분의 화학적 안정성 조사 – 택사의 지표성분의 안정성 조사를 위한 시료는 전남지역에서 재배하여 채취한 1년생 택사 15건이며 이를 실온에서 24개월간 보관하며 alisol B 및 alisol B acetate의 함량을 측정하고 두 성분의 화학적 안정성을 검토하였다.

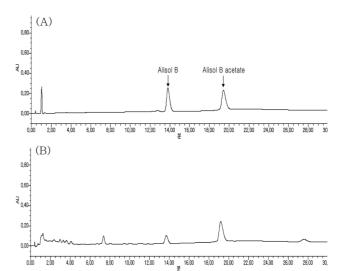
**통계분석** – 함량 결과의 평균값의 유의성은 Duncan's multiple range test로 *P*<0.05 수준에서 비교하였으며 통계 분석 시스템으로 statistical analysis system(SAS, Version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

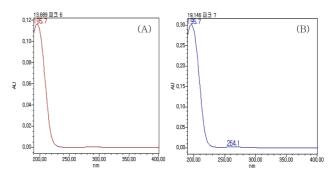
#### 분석법 밸리데이션

특이성(Specificity) — 확립된 HPLC 분석조건으로 alisol B 및 alisol B acetate를 분석하였을 때 각 성분의 머무름 시간은 alisol B 13.8 분이며, alisol B acetate 19.4 분으로 뚜렷하게 분리되었다. 각 성분의 단일성은 PDA 스펙트럼을통해 확인하고 alisol B 및 alisol B acetate의 특이성을 확인하였다(Fig. 2, 3).

정확성(accuracy) 및 정밀성(percision) – 확립된 분석법의



**Fig. 2.** HPLC chromatograms of standard compounds and Alismatis Rhizoma. (A) Chromatogram of each standard compound, (B) Chromatogram of the Alismatis Rhizoma.



**Fig. 3.** PDA spectrums of standard compounds from Alismatis Rhizoma. (A) Alisol B, (B) Alisol B acetate.

정확성과 정밀성은 각 성분의 함량 회수율과 반복측정값의 상대표준편차로 측정하였다. 회수율은 각각 99.2%, 99.7%로 확인되었으며, alisol B와 alisol B acetate의 반복측정값의 상대표준편차는 각각 0.10%, 0.08%이었다(Table III).

직선성(linearity) 및 범위(range) – 직선성 및 범위는

Table III. Accuracy and precision of alisol B and alisol B acetate

Compounds	Accuracy (%)	Precision (%)
Alisol B	$99.2~\pm~0.02$	0.10
Alisol B acetate	$99.7~\pm~0.01$	0.08

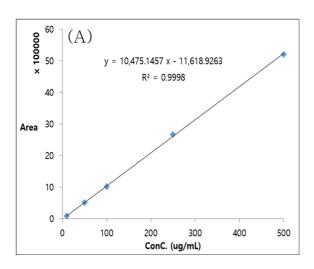
Table IV. Calibration curve equations of alisol B and alisol B acetate

Compounds	Calibration curve equation <sup>a)</sup>	Correlation coefficient (R <sup>2</sup> ) <sup>b)</sup>
Alisol B	y = 10,475x - 11,618.93	0.9998
Alisol B acetate	y = 9,767x - 11,509.05	0.9998

a)y and x are the peak area and the concentration of the analyte, respectively

b) correlation coefficient for 5 points in the calibration curves

346 Kor. J. Pharmacogn.



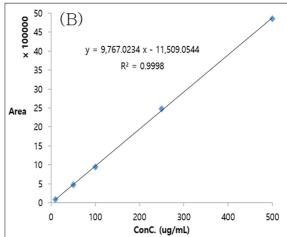


Fig. 4. Calibration curves of Standard compounds. (A) Alisol B, (B) Alisol B acetate

Table V. LOD and LOQ of Alisol B and Alisol B acetate

Compounds	LOD (µg/ml)	LOQ (µg/ml)
Alisol B	12	36
Alisol B acetate	12	36

alisol B 및 alisol B acetate 표준액을 10, 50, 100, 250, 500 μg/ml 농도로 검량선을 작성하여 확인하였으며, 각 성분에 대한 검량선의 상관계수(R<sup>2</sup>)가 0.999 이상의 양호한 직선성을 나타내었다(Table IV, Fig. 4).

**검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)** – 검출한계와 정량한 계는 앞서 서술한 식에 따라 산출하였으며 검출한계는 12 μg/ml, 정량한계는 36 μg/ml로 확인하였다(Table V).

택사의 alisol B 및 alisol B acetate의 함량 분석 - 택사 시료 40건에 대해 확립된 HPLC 분석법으로 alisol B 및 alisol B acetate 함량을 조사한 결과 alisol B의 경우는 국내 산 시료 35건에서 최소 0.02%, 최대 0.10% 범위로 조사되 었으며, 중국산 시료 5건에서 최소 0.17%, 최대 0.50% 범 위로 조사되어 국내산 시료 대비 중국산 시료에서 높게 조 사되었다(Table VI). 반면, alisol B acetate의 경우는 국내산 시료 35건에서 최소 0.12%, 최대 0.25% 범위로 조사되었으 며, 중국산 시료 5건에서 최소 0.16%, 최대 0.24% 범위로 유사한 수준으로 조사되었다(Table VI). Braham 등<sup>18)</sup>이 택 사의 alisol B 및 alisol B acetate 함량을 각각 0.04~0.30%, 0.16~0.86% 범위로 보고한 것과 비교할 때 alisol B의 함량 은 유사하나, alisol B acetate 함량은 낮은 수준으로 조사되 었다. 안 등<sup>19)</sup>의 HPLC/MS를 이용한 택사의 alisol B acetate 의 검출에 관한 보고에서는 alisol B acetate의 함량을 0.01 ~0.31%로 보고하고 있어 이는 본 연구의 결과와 유사하였 다. 택사의 alisol B acetate 함량의 편차가 나타나는 것은 동 일한 기원식물이라 하더라도 산지, 생육(재배)조건, 수확시

**Table VI.** The contents of alisol B and alisol B acetate in comercial Alismatis Rhizoma.

comerciai	Alismatis	Knizoma.	
No.		Alisol B	Alisol B acetate
Sample	16	$0.02 \pm 0.01^{a}$	$0.14 ~\pm~ 0.01$
Sample	17	$0.03\ \pm\ 0.01$	$0.18~\pm~0.02$
Sample	18	$0.02\ \pm\ 0.00$	$0.16~\pm~0.00$
Sample	19	$0.02\ \pm\ 0.00$	$0.17\ \pm\ 0.00$
Sample	20	$0.03\ \pm\ 0.03$	$0.20\ \pm\ 0.01$
Sample	21	$0.03\ \pm\ 0.00$	$0.17\ \pm\ 0.00$
Sample	22	$0.03\ \pm\ 0.02$	$0.18~\pm~0.01$
Sample	23	$0.03\ \pm\ 0.01$	$0.20\ \pm\ 0.02$
Sample	24	$0.04\ \pm\ 0.01$	$0.17\ \pm\ 0.00$
Sample	25	$0.06~\pm~0.00$	$0.22\ \pm\ 0.01$
Sample	26	$0.03\ \pm\ 0.00$	$0.14 ~\pm~ 0.00$
Sample	27	$0.03\ \pm\ 0.00$	$0.15~\pm~0.00$
Sample	28	$0.05~\pm~0.02$	$0.22\ \pm\ 0.00$
Sample	29	$0.02\ \pm\ 0.01$	$0.15~\pm~0.01$
Sample	30	$0.03\ \pm\ 0.00$	$0.19~\pm~0.00$
Sample	31	$0.03\ \pm\ 0.00$	$0.16~\pm~0.00$
Sample	32	$0.03\ \pm\ 0.01$	$0.18~\pm~0.01$
Sample	33	$0.04~\pm~0.00$	$0.19~\pm~0.00$
Sample	34	$0.10\ \pm\ 0.01$	$0.17\ \pm\ 0.00$
Sample	35	$0.06~\pm~0.00$	$0.25~\pm~0.00$
Sample	36	$0.25\ \pm\ 0.01$	$0.19~\pm~0.00$
Sample	37	$0.23\ \pm\ 0.00$	$0.17\ \pm\ 0.00$
Sample	38	$0.17\ \pm\ 0.01$	$0.16~\pm~0.00$
Sample	39	$0.50~\pm~0.01$	$0.24~\pm~0.01$
Sample	40	$0.30~\pm~0.01$	$0.16 \pm 0.01$

<sup>&</sup>lt;sup>a)</sup>Each value represents the mean  $\pm$  S.D.(n=3)

기, 가공방법, 저장법에 따라 함유성분이 영향을 받기 때문이며, 이는 천연물인 한약재의 특성이라 할 수 있다. Braham 등<sup>18)</sup>은 생약의 이차대사 산물의 함량과 비율은 기후 등 재배지의 외부적인 환경 특성에 따라 달라진다고 하였으며 택사의 지표성분을 alisol B acetate로 하고 그 함량의 기준을 0.129%로 제안하였으며, 박 등 $^{21}$ 은 택사의 alisol B acetate 의 함량 기준을 0.25%로 제안한 바 있다.

보관기간에 따른 alisol B 및 alisol B acetate 성분의화학적 안정성 검토 - 한약재가 제조되어 시중에 유통되는 기간은 제조일로부터 3년으로 규정하고 있다. 이에 유통기간 동안 택사의 지표성분으로 alisol B 및 alisol B acetate의화학적 안정성 유지여부를 확인하고자 국내에서 재배한 택사 1년생 시료 15건을 24개월 동안 실온에서 보관하며 alisol B 및 alisol B acetate의 함량 변화를 측정하였다. 그 결과 alisol B의 경우 보관기간 12개월에 11.8% 감소하였고, 24개월에 35.3% 감소하여 보관기간 12개월까지는 함량 변화가 적었으나 그 이후에 큰 폭으로 감소하였다(Table VII). 반면 Alisol B acetate의 경우 12개월에 평균 21.4% 감소하였고, 24개월을 경과한 후 29.5% 감소하여 보관기간 12개월까지 함량 변화가 큰 폭으로 감소하고 그 이후에는 유지되는 양상이었다(Table VIII).

**통계분석 결과** - 보관기간에 의한 지표성분의 함량 결과를 통계 처리한 결과 alisol B의 함량은 유의적 차이를 나타내지 않았으나, alisol B acetate의 함량은 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다(*P*<0.05)(Fig. 5).

Table VII. The contents of alisol B in Alismatis Rhizoma by storage period

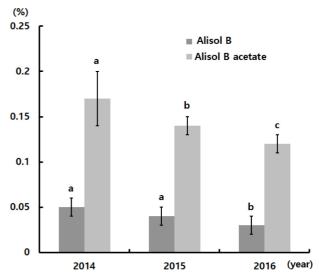
	Storage period(month)		
No. —	0	12	24
1	$0.06 \pm 0.01^{a)}$	$0.05 \pm 0.02$	$0.03 \pm 0.01$
2	$0.06~\pm~0.00$	$0.06~\pm~0.02$	$0.04 ~\pm~ 0.01$
3	$0.05~\pm~0.01$	$0.04~\pm~0.03$	$0.04 ~\pm~ 0.03$
4	$0.05~\pm~0.03$	$0.05~\pm~0.03$	$0.03\ \pm\ 0.04$
5	$0.05~\pm~0.03$	$0.05~\pm~0.03$	$0.04~\pm~0.03$
6	$0.04 ~\pm~ 0.01$	$0.03~\pm~0.05$	$0.03 ~\pm~ 0.03$
7	$0.04 ~\pm~ 0.03$	$0.04~\pm~0.02$	$0.04~\pm~0.06$
8	$0.04 ~\pm~ 0.01$	$0.03~\pm~0.03$	$0.03 ~\pm~ 0.03$
9	$0.06~\pm~0.01$	$0.05~\pm~0.04$	$0.03\ \pm\ 0.02$
10	$0.07 ~\pm~ 0.01$	$0.06~\pm~0.06$	$0.06~\pm~0.03$
11	$0.06~\pm~0.03$	$0.05~\pm~0.03$	$0.04 ~\pm~ 0.04$
12	$0.05~\pm~0.01$	$0.05~\pm~0.04$	$0.03 ~\pm~ 0.03$
13	$0.06~\pm~0.00$	$0.05~\pm~0.03$	$0.02 ~\pm~ 0.06$
14	$0.04~\pm~0.00$	$0.03~\pm~0.02$	$0.02 ~\pm~ 0.03$
15	$0.04~\pm~0.01$	$0.03~\pm~0.02$	$0.02\ \pm\ 0.01$

<sup>&</sup>lt;sup>a)</sup>Each value represents the mean  $\pm$  S.D.(n=3)

**Table VIII.** The contents of alisol B acetate in Alismatis Rhizoma by storage period

No. —	Sto	Storage period(month)			
	0	12	24		
1	$0.19 \pm 0.00^{a)}$	$0.14 \pm 0.03$	$0.10 \pm 0.01$		
2	$0.18~\pm~0.00$	$0.14\ \pm\ 0.01$	$0.13\ \pm\ 0.01$		
3	$0.18\ \pm\ 0.01$	$0.13\ \pm\ 0.01$	$0.12\ \pm\ 0.01$		
4	$0.17\ \pm\ 0.00$	$0.14~\pm~0.02$	$0.14\ \pm\ 0.03$		
5	$0.18~\pm~0.02$	$0.14\ \pm\ 0.01$	$0.13\ \pm\ 0.02$		
6	$0.13\ \pm\ 0.01$	$0.13\ \pm\ 0.02$	$0.13\ \pm\ 0.03$		
7	$0.15~\pm~0.03$	$0.14\ \pm\ 0.03$	$0.14\ \pm\ 0.02$		
8	$0.12\ \pm\ 0.00$	$0.11\ \pm\ 0.03$	$0.11\ \pm\ 0.03$		
9	$0.19~\pm~0.00$	$0.15~\pm~0.02$	$0.12 ~\pm~ 0.01$		
10	$0.22\ \pm\ 0.01$	$0.14\ \pm\ 0.04$	$0.12\ \pm\ 0.01$		
11	$0.18~\pm~0.02$	$0.14\ \pm\ 0.03$	$0.14\ \pm\ 0.01$		
12	$0.18\ \pm\ 0.01$	$0.14\ \pm\ 0.01$	$0.12\ \pm\ 0.02$		
13	$0.20\ \pm\ 0.00$	$0.14~\pm~0.02$	$0.10\ \pm\ 0.01$		
14	$0.15~\pm~0.01$	$0.13\ \pm\ 0.01$	$0.11\ \pm\ 0.03$		
15	$0.17~\pm~0.00$	$0.13 \pm 0.01$	$0.12 \pm 0.01$		

<sup>&</sup>lt;sup>a)</sup>Each value represents the mean  $\pm$  S.D.(n=3)



**Fig. 5.** Changes in content of alisol B and alisol B acetate by storage period. The values represent the mean $\pm$ SD(n=15), means within the same different letters differ significantly(P<0.05).

#### 결 론

한약재의 표준화 및 품질관리를 위해 지표성분의 설정 및 그 함량 기준은 한약재 고유의 특성을 고려하여 설정되어야 할 것이다. 특히, 식물성 한약재의 경우 기원식물, 생산지, 생육(재배)조건, 수확시기, 가공방법, 저장법에 따라 영향을 받는 성분으로 지표성분을 설정할 경우에는 이 물질

348 Kor. J. Pharmacogn.

의 유통기간내의 안정성 등을 고려하여 설정되어야 할 것 이다.

본 연구에서는 지표성분이 미설정되어 있어 품질표준화 및 품질관리에 어려움이 있는 택사에 대해 지표성분을 alisol B 및 alisol B acetate로 설정하고자 HPLC를 사용하여 함량 측정을 위한 시험법을 정립하고 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인에 따라 검토하였다. 정립된 방법을 통해유통되는 택사 40건에 대해 alisol B 및 alisol B acetate 함량을 측정한 결과 alisol B 함량은 최소 0.02%, 최대 0.50% 범위로 조사되었으며, alisol B acetate 함량은 최소 0.12%, 최대 0.25% 범위로 조사되었으며, alisol B acetate 함량은 최소 0.12%, 최대 0.25% 범위로 조사되어 기 보고된 자료와 alisol B 함은 유사하였으나, alisol B acetate 함량은 낮은 수준으로 조사되었다. 또한 중국산 유통품의 경우 동일한 시료에서 alisol B 및 alisol B acetate의 함량의 차이가 거의 없었으나, 국내산 유통품 및 재배품의 경우 동일한 시료에서 alisol B 대비 alisol B acetate의 함량의 차이가 약 10배 높게 조사되었다.

따라서 택사의 품질관리를 위한 지표성분으로 alisol B 보다는 재배 및 유통품에 일정농도 이상으로 확인된 alisol B acetate를 설정하는 것이 합리적일 것이다. 또한, 시료 중 alisol B 및 alisol B acetate 두 성분의 구성비에 의해 국내산과 수입산의 구별이 가능할 것으로 예상되며, 이에 대한추가적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

또한 택사의 지표성분의 함량 조사를 통한 정량법 기준을 제안한 기존 연구와 달리 본 연구는 지표성분의 안정성을 확인하여 정량 기준을 제안하고자 하였다. 택사에 함유되어 있는 alisol B와 alisol B acetate 성분의 안정성 유지 여부를 확인한 결과 alisol B acetate의 함량이 12개월 경과한 후 평균 21.4% 감소하였고, 24개월 경과한 후 29.5% 감소하였다.

본 연구의 결과를 바탕으로 택사의 지표성분은 alisol B acetate로 설정하고 그 함량 기준은 0.05% 이상으로 설정하는 것이 타당할 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 2013년도 식품의약품안전처 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(12172한약재990)으로 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

### 인용문헌

- 1. 생물자원관 생물다양성정보. www.nibr.go.kr
- 2. 이창복 (1985) 대한식물도감, 75, 항문사, 서울.
- 3. 이혜정 (2014) 본초감별도감 제 I 권, 368-369. 한국한의학 연구위 대정
- 4. Lee, S. M., Kho, Y. H., Min, B. S., Kim, J. H., Na, M. K.,

- Kang, S. J., Meang, H. Y. and Bae, K. H. (2001) Cytotoxic triterpenoides from Alismatis Rhizoma. *Arch. Pharm. Res.* **24**: 524-526.
- Law, B. Y., Wang, M., Ma, D. L., Al-Mousa, F., Michelangeli, F., Cheng, S. H., Ng, M. H., To, K. F., Mok, A. Y., Ko, R. Y., Lam, S. K., Chen, F., Che, C. M., Chiu, P. and Ko, B. C. (2010) Alisol B, a novel inhibitor of the sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase pump, induces autophagy, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis. *Mol. Cancer Ther.* 9: 718-730.
- Xu, W., Li, T., Qiu, J. F., Wu, S. S., Huang, M. Q., Lin, L. G., Zhang, Q. W., Chen, X. P. and Lu, J. J. (2015) Anti-proliferative activities of terpenoids isolated from *Alisma orientalis* and their structure-activity relationships. *Anticancer Agents Med. Chem.* 15: 228-235.
- Jin, H. G., Jin, Q., Ryun, Kim, A., Choi, H., Lee, J. H., Kim, Y. S., Lee, D. G. and Woo, E. R. (2012) A new triterpenoid from *Aalisma orientale* and their antibacterial effect. *Arch. Pharm. Res.* 35: 1919-1926.
- 8. Seo, K. I., Cho, Y. S., Park, J. R., Lee, S. T. and Park, C. G. (2000) Antimicrobial and antioxidative effects of Alismatis Rhizoma extract. *Nat. Prod. Sci.* **10**: 524-528.
- Lin, H.-R. (2012) Triterpenes from *Alisma orientalis* act as farnesoid X receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22: 4787-4792.
- Choi, G. Y., Han, G. J. and Ha, S. C. (2011) α-Glucosidase inhibitory substances exploration isolated from herb extract. *Korean J. Food Preserv.* 18: 620-625.
- Zhao, Z. Y., Zhang, Q., Li, Y. F., Dong, L. L. and Liu, S. L. (2015) Optimization of ultrasound extraction of *Alisma orientalis* polysaccharides by response surface methodology and their antioxidant activities. *Carbohydr. Polym.* 119: 101-109.
- 12. Lee, S. N., Kim, M. G, Kim, M. H., Kim, H. J., Jo, H. J., Kim, E. H. and Leem, K. H. (2011) Effects of Alismatis Rhizoma pharmacopuncture extracts on the elastase activity and DPPH and NO scavenging activities. *Kor. J. Acupuncture* 28: 15-22.
- 13. Matsuda, H., Kageura, T., Toguchida, I., Murakami, T., Kishi, A. and Yoshikawa, M. (1999) Effects of sesquiterpenes and triterpenes from the rhizome of *Alisma orientale* on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages: absolute stereostructures of alismaketones-B 23-acetate and C 23-acetate. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9: 3081-3086.
- 14. Han, C. W., Kwun, M. J., Kim, K. H., Choi, J. Y., Oh, S. R., Ahn, K. S., Lee, J. H. and Joo, M. S. (2013) Ethanol extract of Alismatis Rhizoma reduces acute lung inflammation by suppressing NF-κB and activating Nrf2. *J. Ethnopharmacol*. 146: 402-410.
- Chen, H. W., Hsu, M. J., Chien, C. T. and Huang, H. C. (2001) effect of alisol B acetate, a plant triterpene, on apoptosis in vascular smooth muscle cells and lymphocytes. *Eur. J. Phar-macol.* 419: 127-138.

Vol. 48, No. 4, 2017 349

16. Huang, Y. T., Huang, D. M., Chueh, S. C., Teng, C. M. and Guh, J. H. (2006) Alisol B acetate, a triterpene from Alismatis rhizoma, induces Bax nuclear translocation and apoptosis in human hormone-resistant prostate cancer PC-3 cells. *Cancer Lett.* 231: 270-278.

- 17. Lee, S. M., Min, B. S. and Bae, K. H. (2002) Chemical modification of alisol B 23-acetate and their cytotoxic activity. *Arch. Pharm. Res.* **25**: 608-612.
- 18. Braham, Na, Chu, V. M., Kim, K. T., Lee, M. J., Lee, E. S., Jin, H. G., Woo, E. R., Woo, M. H. and Kang, J. S. (2013) Quantitative determination of marker compounds and pattern recognition analysis for quality control of Alismatis Rhizoma by HPLC. *Bull. Korean Chem. Soc.* 34: 2081-2085.
- 19. Ahn, M. J., Lee, C. H., Shin, Y. W., Chun, M. S., Kim, C. Y. and Kim, J. W. (2008) Determination of alisol B 23-acetate and alisol C 23-acetate in Alismatis Rhizoma by HPLC–ESI-MS. *Nat. Prod. Sci.* 14: 152-155.
- Lee, S. M., Kang, J. S., Hwang, G. S., Kim, Y. H. and Lee,
   C. G. (2004) Quality evaluation of Alismatis Rhizoma by
   high performance liquid chromatography. *Arch. Pharm. Res.* 460-464.
- 21. Park, J. C., Hur, J. M. and Kim, S. E. (2005) Isolation and quantitative analysis of alisol B 23-acetate from the rhizome of *Alisma orientale*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 243-246.

(2017. 11. 1 접수; 2017. 11. 22 심사; 2017. 12. 1 게재확정)