

## 당귀(*Angelica* spp.)의 기원분석에 관한 분자생물학적 연구 현황 및 향후과제

이신우 · 이수진 · 한은희 · 신의철 · 조계만 · 김윤희

### Current status on the development of molecular markers for differentiation of the origin of *Angelica* spp.

Shin-Woo Lee · Soo-Jin Lee · Eun-Heui Han · Eui-Cheol Sin · Kye Man Cho · Yun-Hee Kim

Received: 6 February 2017 / Revised: 8 March 2017 / Accepted: 14 March 2017

© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** The dried root of *Angelica* species is used in traditional Chinese medicine in East Asia, particularly in Korea, China and Japan. Since the plant origin differs in these countries, they are often misused or adulterated in the commercial markets, resulting in distrust among the consumers. Enormous efforts have therefore been focused to distinguish the origin for the *Angelica* genus, by using morphological or cytogenetical analyses, and chemical markers based on biochemical analyses of secondary metabolites. DNA is considerably stable against different cultivation conditions, and to treatment and processing after harvesting of plants. Hence, several researches have been filed for the development of molecular markers, based on the single nucleotide polymorphisms in specific regions of DNA. However, there are several obstacles for application in the commercial markets, concerning the reproducibility,

accuracy, sensitivity, and rapidity of these tests. In this review, we summarize the research achievements that help classify the origin of *Angelica* species, in particular, *Angelica gigas* Nakai, *A. sinensis*(oliv.) Diels, *A. acutiloba* Kitag., and *A. acutiloba* var. *sugiyamae* Hikino. Further researches are required for practical applications.

**Keywords** *Angelica*, origin of species, molecular marker, DNA barcode

#### 서론

우리나라는 당귀의 기원식물을 참당귀(*Angelica gigas* Nakai)로 규정하고 있으나 중국은 *A. sinensis*(oliv.) Diels, 일본은 *A. acutiloba* Kitag. (왜당귀)와 *A. acutiloba* var. *sugiyamae* Hikino (북해당귀)를 각각 자국의 약전에 규정하여 그 기원이 다르며, 종이 다르기 때문에 당연히 함유하고 있는 유효성분의 조성과 약효에 있어서도 차이가 있는 것으로 이미 오래전부터 밝혀졌다(Terasawa, 1985; Han, 1991). 특히 당귀의 경우 주로 건조한 뿌리를 한약 재료로 유통되기 때문에 전문가들도 쉽게 감별하기 어렵기 때문에 이들이 혼·오용되는 사례가 많으며, 한약재의 수입 및 수출이 활발하게 이루어지고 있는 중국 및 일본 등과 분쟁의 소지가 다분한 실정이다.

따라서 세포유전학적 감별(Choi et al. 2005), 형태학적 감별(Sung et al. 2004; Seo 2007), 화학적 표준물질의 fingerprinting 및 대사물질 profiling을 이용한 감별(Kobayashi, 2012), 미각 센서를 이용한 관능검사(Kim et al. 2012), 근적외선분광법(Cho et al. 2002), 생체광자방출 비교법(Park et al. 2007) 등에 의한 감별법에 관한 연구결과 발표되었으나 실제 유통시장 등에 실용화가 되기에는 아직 많은 추가연구가 이루어져야 하는 실정이다.

S.-W. Lee · S.-J. Lee  
국립경남과학기술대학교 생명과학대학 농학·한약자원학부  
(Department of Agronomy & Medicinal Plant Resources,  
Gyeongnam National University of Science & Technology,  
Jinju, Korea)

E.-H. Han  
경남농업기술원, 친환경연구과  
(Gyeongsangnam-do Agricultural Research & Extension  
Services, Jinju, Korea)

E.-C. Sin · K. M. Cho  
국립경남과학기술대학교 생명과학대학 식품과학부  
(Department of Food Science, Gyeongnam National University  
of Science & Technology, Jinju, Korea)

Y.-H. Kim (✉)  
국립경상대학교 사범대학 생물교육과 (농업생명과학연구원)  
(Department of Biology Education, College of Education, IALS,  
Gyeongsang National University, Jinju, Korea)  
e-mail: cefle@gnu.ac.kr

특히 이들 약재의 재배지역, 토양의 특성 그리고 수확 후 가공 및 처리 방법, 저장 기간 및 방법 등에 따라 화학적 표준물질들의 조성 및 대사산물들의 변화 등의 이유로 재현성에 문제점이 있어 실용화하기에는 아직 많은 어려움이 있다. 따라서 최근에는 이러한 재배지역, 가공처리 등에 크게 영향을 받지 않는 DNA 단편을 이용한 염기서열 비교 분석에 의한 감별, 전기영동기술을 이용한 DNA 단편의 유무 등을 이용한 판별기술 등 분자생물학적 기술을 적용하기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 이에 본 논문에서는 당귀속에 속하는 약용식물의 지표물질 등을 이용한 판별기술의 개발 현황과 함께 분자생물학적 기술의 발달에 따른 이용현황 및 문제점과 향후 추진하여야 할 방향 등에 관하여 기술하였다.

#### 생리 활성물질 등을 포함한 생리화학적 성분의 조성에 따른 당귀속 식물들의 기원 판별

식물의 다양한 이차대사산물을 분석할 수 있는 생화학적 분석기술의 발달과 함께 당귀속 식물의 종을 구분할 수 있는 특정 지표성분을 하는 찾고자 하는 연구가 활발하게 진행되었다(Zhao et al. 2003; Lu et al. 2004; Lu et al. 2005). 특히 서론에서 언급한 바와 같이 우리나라를 포함하여 중국과 일본이 각각 당귀의 기원식물을 *A. gigas*, *A. sinensis*, *A. acutiloba*로 각각 다르게 정의하고 있기 때문에 이들 3종을 구분하기 위한 연구 결과가 많이 보고되었다(Table 1). 특히 high performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography mass spectrometry (GC/MS), nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF-MS), ultra performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry[(UP)LC-TOF-MS], direct analyses in real time-time-of-flight mass spectrometry (DART-TOF-MS), high performance liquid chromatography/diode-array detector (HPLC-DAD) 등 분석기술의 발달과 함께 이들을 판별할 수 있는 기술도 보다 정교하게 진보되었다.

Zhao 등(2003)은 HPLC 분석기술을 이용하여 이들 3종의 건조뿌리로부터 ferulic acid and Z-ligustilide 등의 함량 차이에 따라 구분이 가능하다고 하였다. 특히 생산지역과 수확 후 처리 및 저장방법에 따라 이들 성분의 함량이 차이를 나타내어 품질의 판별에도 적용이 가능할 것이라고 제시하였다. 유사한 연구로 Lu 등(2004)도 HPLC와 LC-MS 분석 기술을 이용하여 E-ligustilide와 Z-ligustilide의 함량 차이를 조사하여 상호 구분이 가능하다는 결과를 발표하였다. 또한 중국당귀(*A. sinensis*)와 일본당귀(*A. acutiloba* Kitagawa 또는 *A. acutiloba* Kitagawa var. sugiyame Hikino) 그리고 *Ligusticum chuanxiong* Hort., *Cnidium officinale* Makino 등에 속하는 계통들을 수집하여 상호비교 분석한 결과 senkyunolide A의 함량이 중국당귀를 구분할 수 있는 지표화합물로 사용이 가능

하다는 사실을 제시하였으며, 일본당귀도 다른 계통들과 비교적 쉽게 구분이 가능한 HPLC fingerprint를 발표하였다. 그러나 Szechwan Lovage Rhizome (*Ligusticum chuanxiong* Hort.)과 천궁(*Cnidium officinale* Makino)은 아주 유사하여 상호 구분이 불가능하였다(Lu 등, 2005).

최근에는 한국당귀(*A. gigas*)를 중국당귀(*A. sinensis*)와 일본당귀(*A. acutiloba*)로부터 구분할 수 있는 지표물질 즉 decursin과 decursinol angelate이 GC/MS 분석 패턴기술로 보고됨에 따라 보다 정확도를 높일 수 가 있었다(Piao 등, 2007). 또한 Ji 등(2008)은 decursin 화합물의 생합성 대사경로를 조사하기 위하여 한국당귀(*A. gigas*)의 모상근배양 과정에 방사성동위원소로 표지된 전구물질(phenylalanine, cinnamic acid)들을 공급한 후 HPLC 분석기술로 이들 화합물을 추적한 연구결과를 발표하였다(Table 1).

이후 새로운 분석기술이 발달됨에 따라 보다 정교한 지표물질의 fingerprint를 이용한 판별기술이 발달되었다. Tarachiwin 등(2008)은 일본당귀인 (*A. acutiloba* Kitagawa (yamato-toki)와 *A. acutiloba* Kitagawa var. sukiyamae Hikino (hokkai-toki)에 대하여 지리적 기원과 품종을 구분할 수 있는 fingerprint pattern을 조사하기 위하여 <sup>1</sup>H-NMR 분석기술을 사용하였다. 이어서 GC-TOF-MS (Tianniam 등, 2008), (UP)LC-TOF-MS (Tianniam 등, 2009), Pyrolysis GC-MS (Tianniam 등, 2010) 등의 기술을 이용하여 일본당귀에 대한 지표물질을 포함한 화학적 마커개발을 위한 연구결과가 보고되었다. Kim 등(2011)도 DART-TOF-MS 분석 기술을 이용한 결과 decursin과 decursinol angelate 화합물이 한국당귀에만 나타나는 지표물질이었으며, ligustilide, linoleic acid 화합물들의 함량 패턴에 따라 중국당귀와 일본당귀의 구분이 가능하다고 제시하였다. 또한 UHPLC-DAD 분석기술을 이용하여 중국과 한국에서 수집한 *A. gigas* 계통들에 대한 nodakenin, marmesin, decursinol angelate, decursin, demethylsuberosin 등의 fingerprint를 비교 조사한 결과 지리적 기원을 구분할 수 있었다(Kim 등, 2013). 그리고 HPLC/DAD를 이용한 Jeong 등(2008)의 연구결과에서도 한국당귀, 중국당귀, 일본당귀의 지표물질 패턴에 의하여 구분이 가능하였다.

한편 실제시장에서 응용이 가능한 판별기술의 실용화를 위하여 Liu 등(2014)은 이들 지표성분들의 통계적 분석 기술과 electric nose system을 병합하여 보다 신속하고 정확도를 높이기 위한 연구결과를 발표하였다. 또한 이들 지표성분의 추출방법을 열탕에서 추출하고 대사화합물들의 패턴(대사체분석)을 조사하여 약탕으로 섭취하는 조건과 동일한 상태에서 약효성분의 효능과 연계한 분석기술을 도입한 연구결과도 발표 되었다(Chan 등, 2014)(Table 1).

당귀속 식물의 기원을 분석하기 위한 분자생물학적 연구

염기서열 분석 기술의 자동화 등 분자생물학적 기술의 발

**Table 1** Discrimination for the origin of *Angelica Radix* based on their representative phytochemicals

Analysis techniques	Plant species	Representative phytochemicals	Comments	References
HPLC	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	ferulic acid and Z-ligustilide	fingerprint for quality control	Zhao et al., 2003
HPLC, LC-MS	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	E-ligustilide and Z-ligustilide	fingerprint for quality control	Lu et al., 2004
HPLC	<i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i> , Other related species	Senkyunolide A and 10 other compounds	fingerprint for species	Lu et al., 2005
GC/MS	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	10 common peaks including decursin and decursinol angelate	quality control of Korean Angelica	Piao et al., 2007
1H NMR and multivariate analysis	<i>A. acutiloba</i> Kitagawa (yamato-toki) <i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. sukiyamae Hikino (hokkai-toki)	A broad range of metabolites	quality evaluation geographical and variety differences	Tarachiwin et al. (2008)
HPLC	<i>A. gigas</i> Nakai	decursinol, decursin	biosynthetic pathway by feeding experiment	Ji et al., 2008
GC-TOF-MS	<i>A. acutiloba</i> (Yamato-toki)	twenty-two metabolites consisting of sugars, amino and organic acids	quality control	Tianniam et al., 2008
(UP)LC-TOF-MS	<i>A. acutiloba</i>	metabolite profiles	specific profiles for <i>A. acutiloba</i>	Tianniam et al., 2009
Pyrolysis GC-MS	<i>A. acutiloba</i>	metabolite fingerprinting	cultivation area to quality evaluation	Tianniam et al., 2010
DART-TOF- MS	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	decursinol, decursin, ligustilide, linoleic acid,	rapid identification and quality control	Kim et al., 2011
UHPLC-DAD	<i>A. gigas</i>	nodakenin, marmesin, decursinol angelate, decursin, demethylsuberosin	geographical origin	Kim et al., 2013
Electric nose system coupled with multivariate statistical analyses	<i>A. sinensis</i>	-	geographical origin	Liu et al., 2014
<sup>1</sup> H-NMR	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> ,	13 common metabolites	quality control of Angelica Radix	Chan et al., 2014
HPLC/DAD	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	standard compounds	rapid identification	Jeong et al., 2015

GC-TOF-MS : Gas chromatography time-of-flight mass spectrometry

DART-TOF-MS : Direct analyses in real time - time-of - flight mass spectrometry

(UP)LC-TOF-MS : Ultra performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry.

NMR : Nuclear magnetic resonance spectroscopy.

HPLC/DAD : High Performance Liquid Chromatography/Diode - Array Detector

달과 함께 다양한 약용작물의 기원을 분석하기 위한 연구도 활발하게 진행되어 왔다. 초기에는 특정유전자의 염기서열을 비교분석하여 유연관계를 조사하거나 Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Sequence Characterized Amplified Region (SCAR), Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) 등의 기술을 이용하여 특정 약용작물의 기원판별에 적용하는 연구결과가 많이 보고되었다. Table 2에 요약한 바와 같이, 당귀속 약용식물의 경우에도 5S-ribosomal gene spacer region의 염기서열을 비교하여 혼합추출물에 포함되어 있는 *A. acutiloba*의 확인 가능성을 제시하였다(Mizukami, 1995). 또한 Zhao 등(2003)도 *A. gigas*, *A. sinensis*, *A. acutiloba* 등 3종의 뿌리로부터 분리한 5S-ribosomal gene spacer region의 염기서열 차이를 이용하여 상호구분이 가능하였다.

한편, 나고야의정서의 발효 및 FTA 타겟 등에 대비하여 서로 기원이 다른 중국, 일본, 및 한국당귀가 혼재하여 건 뿌리, 또는 약재로 유통되는 과정에 보다 간단하고 신속하게 판별이 가능한 기술의 필요성이 절실하게 되었다. 따라서 RAPD 기술을 적용한 연구결과 발표되기 시작하였다. 특히 Lee 등(2000)은 이들 3종의 당귀속 식물에 대하여 각각 특이적으로 증폭되는 DNA 단편을 확인하고 이를 개별 종에 대한 뿌리의 내부 단면구조의 차이와 상호 연관시켜 구분할 수 있는 연구결과를 발표하였다. 또한 Bang 등(2002)은 RAPD 기술을 이용하여 추대(bolting)에 내성을 나타내는 한국당귀 재배품종인 “만추”에 대한 특이 증폭 DNA를 확인하여 이를 이용하면 손쉽게 혼재된 건 뿌리 등으로부터 판별이 가능할 것이라고 하였다. 또한 Jin 등(2005)은 실제 유통되고 있는 당귀를 약재시장에서 구매하여 RAPD 기술을 적용하여 실용화가 가능한지에 관한 연구결과를 발표하였다. 이와 유사한 연구로 Ribosomal DNA 단편에 존재하는 Internal Transcribed Spacer region (ITS)을 이용한 AFLP 기술을 적용하여 중국당귀, 일본당귀, 한국당귀를 구분할 수 있는 다양한 패턴을 확인할 수 있었다(Choi 등, 2004). 또한, 흥미롭게도 일본당귀(*A. acutiloba*)계통에만 특이하게 나타나는 tandem repeated DNA 서열을 확인하여 SCAR 분석용 특이 primer를 제작하여 PCR을 수행한 결과 일본당귀에서는 tandem repeated bands 들을 확인하였으나 중국당귀와 한국당귀에는 이러한 DNA 단편들이 나타나지 않아 일본당귀 특이 SCAR 마커에 관한 응용가능성을 제시하였으며(Choi 등, 2007), Park 등(2016)은 염색체 SSR marker를 사용하여 한국당귀, 일본당귀, 중국당귀를 포함한 총 14종의 *Angelica* 속의 식물들을 종별로 그룹을 만들 수 있었으며, 이를 이용한 유전적근연 관계를 분석하였다(Table 2).

그러나 RAPD, AFLP, SCAR 등의 기술은 시료의 상태, 조직 부위별 및 분석 조건에 따라 밴드 패턴이 다르게 나타나는 점과 재현성 등이 실용화에 큰 걸림돌이 되고 있다. 따라

서 Seo 등(2004)은 특정 유전자단편의 염기서열에 차이가 나타나는 부위에 프라이머를 제작하여 pyrosequencing 분석 기술을 적용하여 각 종의 peak pattern으로 각각의 종을 판별할 수 있는 연구결과를 발표하였다. 즉 ribosomal DNA 단편의 ITS의 염기서열을 비교한 후 *A. gigas*, *A. sinensis*, *A. acutiloba*에 각각 특이하게 나타나는 단일염기다형성(Single nucleotide polymorphism, SNP) 부위를 포함하도록 primer를 제작하여 pyrosequencing 분석을 수행한 결과 각각 특이하게 나타나는 peak pattern을 조사하였으며, 이를 이용하면 분석 조건에 따른 재현성과 신속성을 개선할 수 있을 것이라고 하였다(Table 2).

### 당귀속 식물의 기원을 판별하기 위한 SNP의 확인

최근에는 SNP를 나타내는 부분을 이용하는 “DNA barcodes”의 개발 및 이를 이용한 약용식물의 기원 분석에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 또한, Consortium for the Barcode of Life (CBOL, <http://barcoding.si.edu>)가 조직되어 국제적인 DNA barcoding 연구가 활성화되기 시작하여 많은 연구결과들이 발표되고 있으나 아직까지 약용식물을 포함한 식물의 경우에는 동물의 cytochrome C oxidase I (COI) 유전자에 버금가는 유효한 barcode는 없는 실정이다.

“DNA barcodes”를 밝혀내는 가장 첫 단계는 각 종에 해당하는 특정 DNA 단편의 염기서열을 비교하여 먼저 SNP 부위를 찾아야 한다. 당귀속에 속하는 약용식물의 근연관계를 조사하기 위하여 ribosomal DNA의 ITS(Feng et al. 2009; Lee et al. 2011), atpF와 atpA 지역(Hosokawa et al. 2006), rbcL, matK, trnH-psbA (Yuan et al. 2014), ITS(Wang et al. 2016) 등의 유전자 단편에 존재하는 SNP를 이용하여 상호 근연관계를 조사한 연구결과들이 각각 보고된 바 있다. 특히, 중국과 일본의 지역별로 수집된 중국당귀 및 일본당귀의 계통간 차이가 나는 SNP를 근거로 하여 이들의 혼합체를 끊어서 만든 탕약재로부터 특정 DNA 단편의 증폭이 가능하였고, 염기서열 분석을 통한 SNP의 확인으로 국가별로 그 기원을 달리하는 당귀종을 정확하게 판별할 수 있었다고 하였다(Table 3).

### 문제점 및 향후 과제

현재까지의 연구결과를 종합하여 보면, 한국, 중국, 그리고 일본에서 그 기원을 달리하는 당귀속 식물들의 정확한 기원판별을 위하여서는 재배조건이나, 수확 후 처리 및 가공 방법 등에 따라 크게 영향을 받지 않는 DNA 단편을 이용한 분자생물학적 판별 마커의 개발이 절실히 필요한 실정이다. 그러나 한국, 중국 및 일본 당귀를 중심으로 RAPDs, RFLPs, SCAR 마커 등의 개발과 함께 ITS region 등에 대한 특정 유전자 단편 내에 존재하는 SNP의 확인 등에 관한 연구

**Table 2** Molecular analyses for the discrimination on the origin of *Angelica* spp.

Techniques	plant species	Markers or target region	Comments	References
Molecular phylogenetic analyses	Umbelliferae family including several <i>Angelica</i> spp	5S-ribosomal gene spacer region	discriminating "Angelica root" from other umbelliferous crude drugs	Mizukami, 1995
	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	5S-ribosomal gene spacer region	sequence variation	Zhao et al., 2003
RAPDs	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	Five useful RAPD markers specific for each species	compared with internal structure of root tissue	Lee et al., 2000
RAPDs	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	Several useful RAPD markers	markers related to bolting -resistant variety	Bang et al., 2002
AFLP	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	RFLP markers on ITS region	specific RFLP pattern for <i>A. gigas</i>	Choi et al., 2004
Pyrosequencing	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	ITS region	species-specific pyrosequencing pattern	Seo et al., 2004
RAPDs	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i>	several useful RAPD markers	applied to samples collected from commercial markets	Jin et al., 2005
SCAR markers, FISH	<i>A. acutiloba</i>	Repetitive DNA sequences	SCAR primers specific for <i>A. acutiloba</i>	Choi et al., 2007
Chloroplast SSR marker	<i>A. gigas</i> , <i>A. sinensis</i> , <i>A. acutiloba</i> and other 11 species	Chloroplast simple sequence repeat	SSR markers for specific species group	Park et al., 2016

ITS : nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences

에 한정되어 있어, 아직까지 실제 유통시장에서 실용화 하기에는 턱없이 부족하여 보다 많은 추가 연구가 필요한 것으로 조사되었다. 특히 최근에 개발된 SNP를 이용한 특이 프라이머의 제작 및 실용화를 위한 amplification refractory mutation system (ARMS)-PCR, multiplex single base extension (MSBE), high-resolution melting (HRM) curve analyses 등을 적용한 연구는 전무한 실정이었다. 특히, HRM 기술 등을 적용하여 단 한 개의 SNP가 존재한 경우에도 상호간에 구분이 가능한 melting curve pattern을 자동분석할 수 있는 프로그램을 이용하여 빠른 시간에 대량의 샘플을 분석할 수 있는 시스템의 도입 등에 관한 연구를 조기에 추진할 수 있도록 하여야 할 것으로 사료된다.

뿐만 아니라 최근에 알려진 차세대 유전체 분석(next generation sequencing, NGS) 기술을 이용한 엽록체 또는 전체 유전체의 염기서열 분석과 이를 이용한 SNP 군의 확인 및 상호비교 분석을 통한 판별 기술의 실용화와 함께 proteomics 등의 각종 omics 기술의 이용을 위한 연구도 진행되어야 할 것이다. 또한 수확 후 처리와 가공방법에 따른 순수 DNA의 분리 기술의 확보, 약탕(탕재) 등에 포함된 DNA의 분리 기술 등의 확보와 함께 지표성분의 분석을 통한 화학적 마커와 분자생물학적 마커의 상호보완을 통한 실용화 연구도 병행되어야 할 것으로 사료되었다.

**Table 3** Development of SNP marker (barcode) for the differentiation on the origin of *Angelica* spp.

Target region	Plants species	Comments	References
<i>atpF</i> - <i>atpA</i>	<i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. <i>acutiloba</i> Kitagawa, <i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. <i>iwatensis</i> Hikino <i>A. acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino	discriminate by SNP	Hosokawa et al., 2006
<i>ITS</i>	<i>Angelica</i> and its allies ( <i>Apiaceae</i> tribe <i>Selineae</i> )	discriminate by SNP	Feng et al., 2009
<i>ITS</i>	29 accessions of <i>Angelica</i>	discriminate by SNP	Lee et al., 2011
<i>rbcL</i> , <i>matK</i> , <i>trnH-psbA</i> , <i>ITS</i>	95 leaf accessions collected from 23 species known as <i>Angelica</i> genus in China	discriminate based on SNP, tried on the decoction pieces of <i>A. sinensis</i> and <i>A. biserrata</i>	Yuan et al., 2014
<i>ITS</i>	265 samples of <i>Angelicae sinensis</i> radix and adulterants	SNP for the discrimination of <i>A. sinensis</i> from the decoctions of adulterant's mixture	Wang et al., 2016

ITS : nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences

**적 요**

당귀는 우리나라를 포함하여 중국과 일본 등 아시아국가에서 유용하게 이용되는 한약재이다. 그러나 국가마다 그 기원을 달리하기 때문에 혼·오용이 심하고 국제시장에서 혼란을 불러일으킬 소지가 다분하다. 따라서 오래전부터 형태학적, 세포유전학적 분석과 지표성분을 이용한 화학적 판별 마커의 개발에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다. 또한 최근에는 다양한 재배환경과 수확 후 가공 및 처리방법에도 비교적 안전한 유전자 단편의 염기서열 비교분석을 통한 분자생물학적 기술을 적용한 판별기술의 개발에 관한 연구결과들이 발표되고 있다. 그러나 아직까지 이들 기술의 실용화를 통한 현장 적용에는 한계가 있으며 보다 많은 후속연구가 수행되어야 한다. 이에 본 논문에서는 현재까지의 연구결과를 바탕으로 얻어진 문제점을 논하고 향후 필요한 추가 연구 과제들에 관하여 기술하였다.

**사 사**

본 연구는 2016년도 경남과학기술대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

**References**

Bang KH, Yu HS, Koo DH, Cho JH, Park HW, Seong NS, Park SI,

Kim HS (2002) Selection of RAPD marker to discriminate the bolting-resistant varieties and commercial dried medicinal materials of *Angelica* species. *Kor J Med Crop Sci* 10:46-50  
 Chan PH, Zhang WL, Lau CH, Cheung CY, Keun HC, Tsim KW, Lam H (2014) Metabonomic analysis of water extracts from different angelica roots by <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Molecules* 19:3460-3470  
 Cho CH, Kim SJ, Kim HJ (2002) Comparative studies on the discrimination of *Angelicae Gigantis* Radix by near-infrared spectroscopy, electronic nose and X-ray fluorescence spectrometry. *Yakhak Hoeji* 46:161-167  
 Choi HW, Koo DH, Lee WK, Kim SY, Sung JS, Seong NS, Suh YB, Bang JW (2005) Cytogenetic analysis of seven *Angelica* species. *Kor J Med Crop Sci* 13:118-121  
 Choi HW, Song H, Koo DH, Bang JW, Hur Y (2007) Molecular and cytological characterization of species-specific repetitive DNA sequences for *Angelica acutiloba*. *Kor J Gen* 29: 503-511  
 Choi HY, Choi YJ, Lee JH, Ham I (2004) Sequencing analysis on the ITS region and AFLP analysis to identify dried medicinal *Angelica* species. *Kor J Herbol* 19:91-99  
 Feng T, Downie SR, Yu Y, Zhang X, Chen W, He X, Liu S. (2009) Molecular systematics of *Angelica* and allied genera (*Apiaceae*) from the Hengduan Mountains of China based on nrDNA ITS sequences: phylogenetic affinities and biogeographic implications. *J Plant Res* 122:403-414  
 Han GQ (1991) The screening of Chinese traditional drugs by biological assay and the isolation of some active components. *Int J Chi Med* 16:1-17  
 Hosokawa KI, Hishida A, Nakamura I, Shibata T (2006) The

- sequences of the spacer region between the *atpF* and *atpA* genes in the plastid genome allows discrimination among three varieties of medicinal *Angelica*. *Planta Med* 72:570-571
- Jeong SY, Kim HM, Lee KH, Kim KY, Huang DS, Kim JH, Seong RS (2015) Quantitative analysis of marker compounds in *Angelica gigas*, *Angelica sinensis*, and *Angelica acutiloba* by HPLC/DAD. *Chem Pharm Bull* 63:504-511
- Ji X, Huh B, Kim SU (2008) Determination of biosynthetic pathway of decursin in hairy root culture of *Angelica gigas*. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 51:258-262
- Jim DC, Sung JS, Bang KH, In DS, Kim DH, Park HW, Seong NS (2005) Selection of PCR markers and its application for discriminating dried root of three species of *Angelica*. *Kor J Med Crop Sci* 13:121-125
- Katoh A1, Fukuda S, Fukusaki E, Hashimoto T, Hayasaki T, Kanaya S, Komura H, Nomoto K, Shoji M, Takeno KJ. (2011) Systems biology in a commercial quality study of the Japanese *Angelica radix*: toward an understanding of traditional medicinal plants. *Am J Chin Med* 39:757-777
- Kim HJ, Xiang-lan PiaoXI, Jang YP (2011) Chemotype discrimination and rapid identification of *Angelica* roots by DART-TOF-MS. *Nat Pro Sci* 17:202-205
- Kim JR, Lee DY, Sung SH, Kim JW (2013) Geographical classification of *Angelica gigas* using UHPLC-DAD combined multivariate analyses. *Kor J Pharmacogn* 44:332-335
- Kim YH, Choi G, Lee HW, Lee GH, Chae SW, Kim YH, Lee MY (2012) Comparison of *angelica* species roots using taste sensor and DNA sequencing analysis. *Kor J Herbol* 27:37-42
- Kobayashi S, Putri SP, Yamamoto Y, Donghyo K, Bamba T, Fukusaki E (2012) Gas chromatography-mass spectrometry based metabolic profiling for the identification of discrimination markers of *Angelicae Radix* and its application to gas chromatography-flame ionization detector system. *J Biosci Bioeng* 114:232-236
- Lee BY, Kwak M, Han JE, Kim SJ (2011) The taxonomic status of *Angelica purpuraeifolia* and its allies in Korea: inferences based on ITS molecular phylogenetic analyses. *Kor J Plant Tax* 41:209-214
- Lee, MY, Im SH, Ju YS, Han KS, Jeong GJ, An DG, Kang HC, Ko BS (2000) Discrimination of the three *Angelica* species using the RAPDs and internal root structure. *Kor J Med Crop Sci* 8:243-249
- Liu J, Wang W, Yang Y, Yan Y, Wang W, Wu H, Ren Z (2014) A rapid discrimination of authentic and unauthentic Radix *Angelicae Sinensis* growth regions by electronic nose coupled with multivariate statistical analyses. *Sensors (Basel)* 14: 20134-20148
- Lu GH, Chan K, Chan CL, Leung K, Jiang ZH, Zhao ZZ. (2004) Quantification of ligustilides in the roots of *Angelica sinensis* and related umbelliferous medicinal plants by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1046:101-107
- Lu GH, Chan K, Liang YZ, Leung K, Chan CL, Jiang ZH, Zhao ZZ. (2005) Development of high-performance liquid chromatographic fingerprints for distinguishing Chinese *Angelica* from related umbelliferae herbs. *J Chromatogr A* 1073:383-392
- Mizukami H (1995) Amplification and sequence of a 5s-rRNA gene spacer region from the crude drug "angelica root". *Biol Pharm Bull* 18:1299-1301
- Park SI, Kim S, Gil J, Lee Y, Kim HB, Lee JH, Kim SC, Jung CS, Um Y (2016) Development of chloroplast DNA-based simple sequence repeat markers for *Angelica* species differentiation. *J Med Crop Sci* 317-322
- Park WS, Lee CH, Soh KS, Lee YJ, Lee CY, Lee TH, Kim YS, Kim DH. (2007) Study on biophoton emission from roots of *Angelica gigas* N., *Angelica sinensis* D., and *Angelica acutiloba* K. *Kor J Herbol* 22:95-100
- Piao XL, Park JH, Cui J, Kim DH, Yoo HH (2007) Development of gas chromatographic/mass spectrometry-pattern recognition method for the quality control of Korean *Angelica*. *J Pharm Biomed Anal* 44:1163-1167
- Seo JC, Han SW, Choi HY, Choi YJ, Leem KH (2004) Identification of *Angelica* species by pyrosequencing. *Kor J Ori Med* 25:147-151
- Seo YN (2007) A study on the discrimination of *Angelica* species roots by dyeing. *Kor J Plant Res* 20:247-250
- Sung JS, Bang KH, Park CH, Park CG, Yu HS, Park HW, Seong NS. (2004) Discrimination of *Angelicae Radix* based on anatomical characters. *Kor J Med Crop Sci* 12:67-72
- Tarachiwin L, Katoh A, Ute K, Fukusaki E (2008) Quality evaluation of *Angelica acutiloba* Kitagawa roots by <sup>1</sup>H NMR-based metabolic fingerprinting. *J Pharm Biomed Anal* 48:42-48
- Terasawa K (1985) Chemical and clinical evaluation of crude drugs derived from *Angelica acutiloba* and *A. sinensis*. *Fitoterapia* 56:201-208
- Tianniam S, Bamba T, Fukusaki E (2009) Non-targeted metabolite fingerprinting of oriental folk medicine *Angelica acutiloba* roots by ultra performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *J Sep Sci* 32:2233-2244
- Tianniam S, Bamba T, Fukusaki E. (2010) Pyrolysis GC-MS-based metabolite fingerprinting for quality evaluation of commercial *Angelica acutiloba* roots. *J Biosci Bioeng* 109:89-93
- Tianniam S, Tarachiwin L, Bamba T, Kobayashi A, Fukusaki E (2008) Metabolic profiling of *Angelica acutiloba* roots utilizing gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for quality assessment based on cultivation area and cultivar via multivariate pattern recognition. *J Biosci Bioeng* 105: 655-659
- Wang X, Liu Y, Wang L, Han J, Chen S (2016) A nucleotide signature for the identification of *Angelicae Sinensis Radix* (Danggui) and its products. *Sci. Rep.* 6, 34940; doi: 10.1038/srep34940 (2016).
- Yuan QJ, Zhang B, Jiang D, Zhang WJ, Lin TY, Wang NH, Chiou SJ, Huang LQ (2014) Identification of species and materia medica within *Angelica L. (Umbelliferae)* based on phylogeny inferred from DNA barcodes. *Mol Ecol Resour* 15:358-371
- Zhao KJ, Dong TT, Tu PF, Song ZH, Lo CK, Tsim KW (2003) Molecular genetic and chemical assessment of radix *Angelica* (Danggui) in China. *J Agric Food Chem* 51:2576-2583