

목향(Saussureae Radix)으로부터 Costunolide의 분리 및 함량분석

강삼식*, 김주선, 지형준, 장승엽¹, 하광원¹
서울대학교 천연물과학연구소, ¹식품의약품안전청

Isolation and Quantitative Determination of Costunolide from Saussurea Root

Sam Sik Kang*, Ju Sun Kim, Hyung-Joon Chi,
Seung-Yeup Chang¹ and Kwang-Won Ha¹

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460
and ¹Natural Medicines Standardization Division, Korea Food and
Drug Administration, Seoul 122-704

Abstract—Isolation and quantitative determination of costunolide from *Saussurea lappa* Clarke (Compositae) has been conducted by using HPLC method. Costunolide in an acetone extract from the crude drug was separated on a RP-18 column using a MeOH-H₂O mixture (65:35) as an eluent and the average content is about 1.32~1.42%. The content of costunolide in dried extract was decreased by about 24% in seven days. However it showed a slight decrease in solution. It is highly recommended that quantitative determination of costunolide from *Saussureae Radix* should be conducted as early as possible after solvent extraction.

Key words—*Saussurea lappa*; Compositae; root; quantitative determination of costunolide; HPLC method; degradation of costunolide.

국화과 식물인 목향(*Inula helenium* L.)의 뿌리를 토목향(土木香)으로 부르며 대한약전의 한약(생약)규격집에 수재되어 있고 소화불량, 복부팽만, 설사 이질 등의 치료목적으로 사용되어 왔으나, 현재는 약전수재 품목인 목향(*Saussurea lappa* Clarke)의 뿌리를 수입하여 같은 목적으로 사용되고 있다.¹⁾ 목향은 주로 중국의 운남성이나 감숙성에서 재배하고 있으며 많은 종류의 sesquiterpene 및 sesquiterpene lactone계 화합물들이 보고²⁾되고 있으며 이외에도 polyene alcohols,³⁾ triterpene, lignan, amino acid-sesquiterpene adduct,

alkaloid 및 tannin 등이 보고되어 있다. 이들 성분중 주성분은 sesquiterpene lactone계 화합물들인 costunolide(1)와 dehydrocostus lactone(2)으로 알려져 있으며 Yoshizaki 등⁴⁾에 의하면 목향중에 costunolide(1)는 1.235%, dehydrocostus lactone(2)는 1.47% 함유되어 있다고 보고 하였다. 이들 주성분들은 위장관운동 항진작용,⁵⁾ 항궤양작용, 이담작용⁶⁾ 등을 나타내는 유효성분으로 알려져 있다. 또한 hexobarbital로 유도한 수면시간을 연장하며 해열작용, 진통작용, methamphetamine이나 apomorphine 등으로 유도한 자발운동을 감소시키는 등 신경이완작용을 나타내는 유효성분⁷⁾으로도 보고되어 있다. 따라서 목향의 품

*교신저자 : Fax 02-743-3323

질평가를 위하여 costunolide을 지표물질로 하여 HPLC를 이용한 분석법을 검토하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

검체-1997년 국내 5개지역(서울A, 서울B, 안동, 대구, 천안)에서 시판되고 있는 목향을 구입하여 마쇄한 후 검체로 사용하였다.

이화학적 실험-한약(생약)규격집 주해서에 따라 다음과 같이 이화학적 실험을 실시하였다.

1) 확인시험: 검체 0.5 g에 에탄올 10 ml를 넣고 1분간 가온하여 식힌 다음 여과하여 여액 1 ml에 염산 0.5 ml를 넣어 흔들어서 섞을 때 액이 자색을 나타내는지 확인하였다.

2) 엑스함량: 묽은에탄올엑스정량법에 따라 검체 2.3 g을 정밀하게 달아 적당한 플라스크에 넣고 묽은에탄올 70 ml를 넣어 때때로 흔들어서 섞어 5시간 침출하였다. 다시 16~20시간 방치한 다음 여과하였다. 플라스크 및 잔류물은 여액이 100 ml로 될 때까지 묽은에탄올로 씻었다. 여액 50 ml를 수욕상에서 증발건조하고 105°C에서 4시간 건조하여 데시케이터(실리카겔)에서 식힌 다음 그 무게를 정밀하게 달고 2를 곱하여 묽은에탄올엑스의 양으로 하였다. 건조감량에서 얻은 값에서 건조물로 환산한 검체량에 대한 엑스함량(%)을 산출하였다.

추출 및 분리-목향을 acetone으로 실온에서 3회 반복 추출하여 acetone 엑스를 얻었다. 이 acetone 엑스중 82 g을 SiO₂ column에 걸고 hexane:CH₂Cl₂=2:1의 혼합용매로 용출시켜 13개의 소분획을 얻었다. 소분획9를 CH₂Cl₂-MeOH 혼합용매로 재결정을 반복하여 costunolide를 얻었다.

mp 103~5°C, IR, ν_{\max} (KBr, cm⁻¹) 1763, 1667, 1453, 1140, 1059, 963; EI-MS, *m/z* (rel. int.) 232[M]⁺(15), 217(11.4), 189(5.4), 175(10), 150(15.2), 123(45.7), 109(76.8), 81(96.8), 53(100), 41(50.9); ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ : 4.85(1H, dd, *J*=4.5, 11.1 Hz, H-1), 4.74(1H, brd, *J*=9.9 Hz, H-5), 4.57(1H, dd, *J*=8.7, 9.9 Hz, H-6), 2.57(1H, t, *J*=8.4 Hz, H-7), 5.52(1H, *J*=3.3 Hz, H-13), 6.27(1H, d, *J*=3.3 Hz, H-13'), 1.42(3H, brs, 14-CH₃), 1.70(3H, d, *J*=1.5 Hz, 15-

CH₃); ¹³C-NMR(75.5 MHz, CDCl₃) δ : 127.3(C-1), 28.1(C-2), 41.0(C-3), 140.3(C-4), 127.5(C-5), 82.0(C-6), 50.5(C-7), 26.2(C-8), 39.5(C-9), 137.2(C-10), 141.7(C-11), 119.9(C-13), 16.1(C-14), 17.4(C-15).

HPLC의 분석조건-column: Spheri-5 RP-18 5 micron(220×4.6 mm), detector: UV 215 nm, mobile phase: MeOH-H₂O(65:35), flow rate: 1.0 ml/min, sensitivity: 0.1 AUFS, chart speed: 0.5 cm/min.

검액의 조제-검체 100 mg을 정평하여 acetone 40 ml를 가해 2시간씩 2회 가열 추출한 후 여과하여 얻은 여액을 감압농축하여 acetone 추출물을 얻었다. 이를 5 ml acetone에 용해시켜 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 검액으로 사용하였다.

표준검량선의 작성-분리한 costunolide 4.0 mg을 정평하여 acetone을 가해 10 ml로 하여 400 μ g/ml의 stock solution을 만들고, 이를 일정량씩 취하여 acetone으로 희석시켜 200, 100, 50 μ g/ml 농도의 표준용액을 조제 하였다. 각 표준용액 10 μ l를 취하여 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram으로 부터 면적을 구한 후 이들 면적과 표준용액의 농도를 변수로 하여 검량선을 작성하여 얻은 회귀직선 방정식은 $y=3355.917x+10966.05$ ($r=0.9999$) 이었다.

Costunolide의 함량-위에서 조제한 각 검액으로 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram에서 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로부터 각각의 costunolide 함량을 구하였다.

Costunolide 함량의 경시변화-① 고체상태 보관시의 경시변화 - 검체 500 mg을 정평하여 acetone 200 ml를 가해 2시간씩 2회 가열추출한 후 여과하여 얻은 여액을 약 60~70 ml 정도로 농축한 후 acetone을 가해 100 ml로 하였다. 이를 20 ml씩 5개로 나누어 각각을 감압농축하여 진공데시케이터에 보관하였다가 0일, 1일, 2일, 3일 및 7일 경과후에 꺼내어 5 ml acetone에 용해시켜 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram에서 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로 부터 각각의 costunolide 함량을 구하였다.

② 용액상태 보관시의 경시변화 - ①에서 얻은 0일의 검액을 용액상태로 보관한채 0일, 1일, 2일,

3일 및 7일 경과후 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram에서 면적을 구하여 회귀직선 방정식으로 부터 각각의 costunolide 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

국내 5개 지역에서 수집한 목향을 약전규격집에 따라 이화학적실험을 실시한 결과 Table I과 같이 모든 검체가 적합함을 알았다. 따라서 이들 검체를 사용하여 acetone을 사용하여 추출한 후 농축하여 얻은 엑스를 SiO₂ column에 걸고 hexane-CH₂Cl₂ =2:1로 용출시켜 costunolide(1)를 분리하였다. 분리된 costunolide(1)는 이화학적 성상과 spectral data가 문헌치³⁾와 잘 일치하므로 이를 확인할 수 있었다.

분리한 costunolide(1)를 지표물질로 함량분석을 실시하였다. RP-18 역상 column을 사용하여 Yoshizaki 등⁴⁾의 방법에 따라 HPLC를 실시한 결과 Fig. 1과 같은 chromatogram을 얻을 수 있었으며, spike test 결과 costunolide(1)는 t_R=9.54분대에서 나타나는 강한 peak와 일치함을 알았다. 지표물질을 사용하여 검량선을 작성하여 Fig. 2와

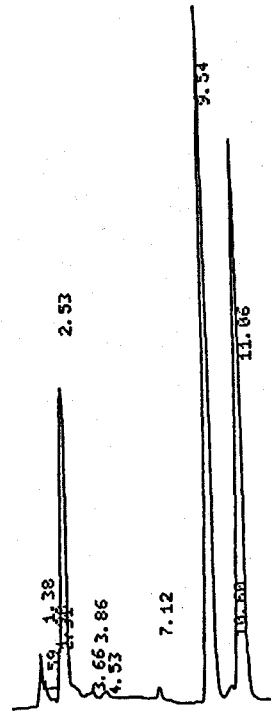
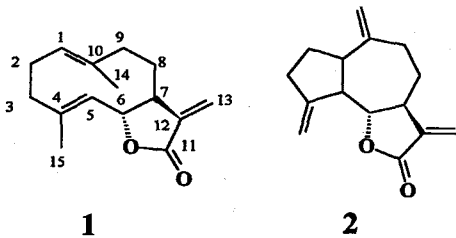


Fig. 1. Typical HPLC chromatogram of acetone extract from *Saussurea* root.



같이 50~400 µg/ml 농도범위에서 분석 가능 하였으며, 이때 회귀직선방정식은 Y=3355.917X+10966.05(r=0.999)로 매우 양호한 직선성이 인정되었다. 검체중의 costunolide 함량분석 결과 Table I에 나타난 바와 같이 대략 1.4% 함유되어 있음을 알았다. 이와같은 결과는 Yoshizaki 등⁴⁾의 1.235%와 매우 유사한 결과임을 알았다.

Table I. Evaluation and costunolide contents of crude drug samples

Item	Sample I (Seoul IA)	Sample II (Seoul IB)	Sample III (Andong)	Sample IV (Taegu)	Sample V (Cheonan)
Test for Identification	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet
Extract Weight (%)	31.91	35.74	25.04	26.09	23.74
Contents of Costunolide (%)	1.404±0.101	1.394±0.119	1.419±0.087	1.320±0.119	1.399±0.103

Table II. Time-dependent variation of costunolide (1) contents (%)

Sample	Preservative method	1 day	1 day	2 day	3 day	7 day
Sample IV (Taegu)	Dried extract	1.388	1.381	1.335	1.244	1.046
	Extract dissolved in acetone	1.388	1.383	1.383	1.349	1.475
Sample I (Seoul IA)	Dried extract	1.326	1.222	1.198	1.184	0.978
	Extract dissolved in acetone	1.326	1.258	1.252	1.270	1.280

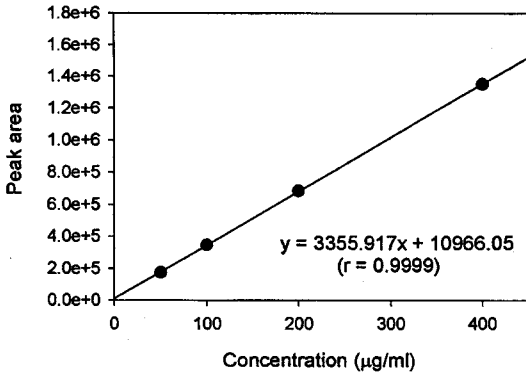


Fig. 2. Calibration curve for costunolide (1).

한편 costunolide는 불안정하여 일부 분해하는 것으로 알려져 있으므로 이 화합물에 대하여 경시변화를 검토하였다. 실험부에 기술한 바와같이 검체를 acetone으로 추출하여 얻은 엑스를 고체상태에서 테시케이타에 감압하여 보관한 후 일정시간 경과 후 costunolide 함량분석을 실시한 결과 Table II 및 Fig. 3에서 볼 수 있는 바와같이 유기용매에 용해시켜 용액상태로 보관하는 방법보다 크게 함량이 감소함을 알았다.

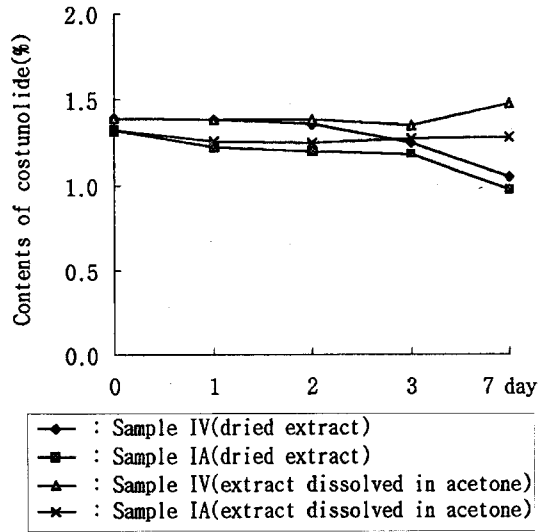


Fig. 3. Time-dependent variation of costunolide contents.

즉 목향 acetone 엑스의 고체상태 보관시 costunolide의 함량은 7일 경과후 약 23.7%(대구) 및 26.2%(서울A)의 감소를 나타내었고, HPLC 측정시 chromatogram에서 t_R 3.4분대에 처음에는

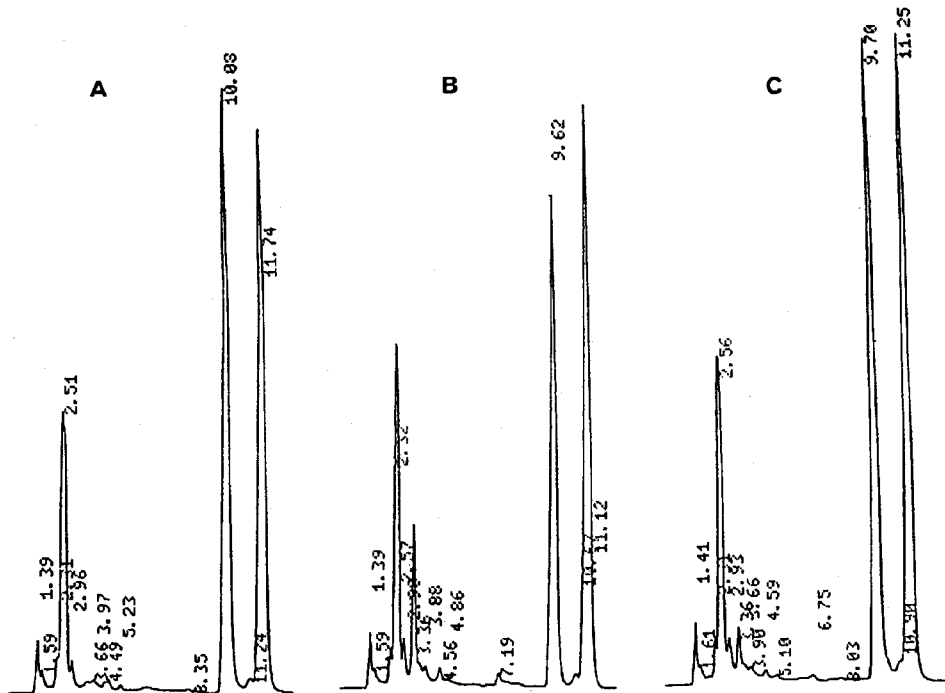


Fig. 4. HPLC chromatogram of extracts from sample IV (Taegu). A, Day 0; B, Dried extract for 7 days; C, Extract dissolved in acetone for 7 days.

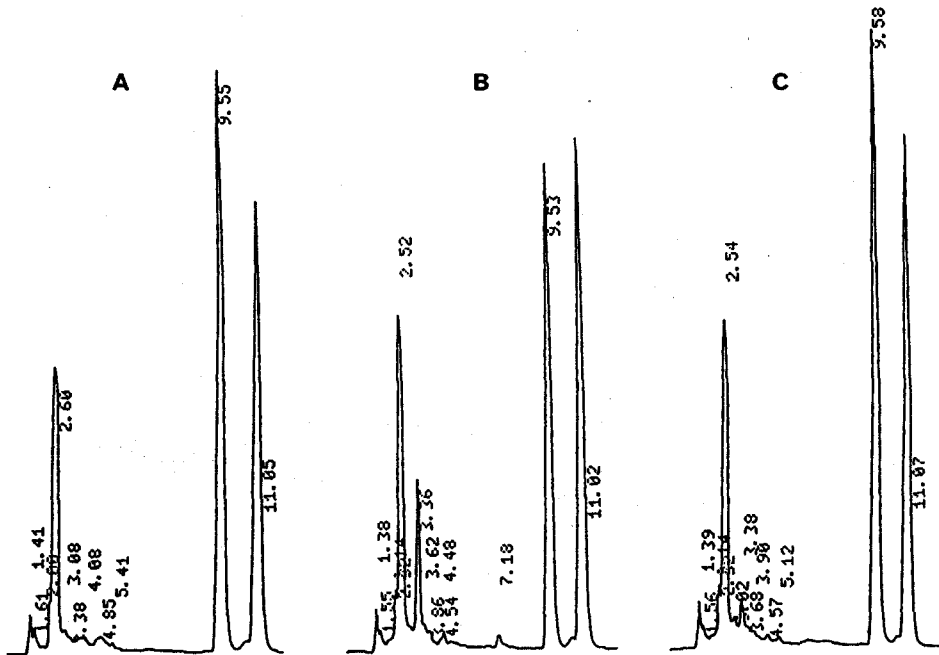


Fig. 5. HPLC chromatogram of extracts from sample I (Seoul IA). A, Day 0; B, Dried extract for 7 days; C, Extract dissolved in acetone for 7 days.

거의 없었던 새로운 peak가 나타나 시간이 경과함에 따라 이 peak의 강도가 점차 증가하며 동시에 costunolide(1)의 peak강도는 점차 감소함을 관찰할 수 있었다(Fig. 4, 5). 그러나 액체상태 보관시에는 7일 경과시까지 유의성있는 변화를 관찰할 수 없었다. 따라서 목향분석을 위한 엑스는 추출 후 바로 함량분석을 하든지 아니면 용액상태로 용해시켜 보관한 후 분석하는것이 costunolide의 경시변화를 방지할 수 있는 방법이라고 사료 되었다. 이상의 실험 결과 목향중의 costunolide(1) 함량은 오차한계를 고려하여 1.20% 이상으로 규정하는것이 타당하다고 사료된다.

사 사

본 연구에 소요된 경비의 일부는 1997년도 생약 한약재 품질 표준화연구(보건복지부)의 지원에 의하여 이루어 졌으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 지형준, 이상인 (1988) 대한약전의 한약(생약)규격집

주해서. 한국메디칼인텍사, 서울.

- Jung, J. H., Ha, J. Y., Min, K.-R., Shibata, F., Nakagawa, H., Kang, S. S., Chang, I.-M. and Kim, Y.-S. (1998) Reynosin from *Saussurea lappa* as Inhibitor on CINC-1 Induction in LPS-stimulated NRK-52E Cells. *Planta Med.* 64: 454-456.
- Jung, J. H., Kim, Y.-S., Lee, C.-O., Kang, S. S., Park, J.-H. and Im, K. S. (1998) Cytotoxic constituents of *Saussurea lappa*. *Arch. Pharm. Res.* 21: 153-156.
- Yoshizaki, F., Koyanagi, M., Madarame, M. and Hisamichi, S. (1985) Simultaneous determination of dehydrocostus lactone and costunolide in *Saussureae radix* by high performance liquid chromatography. *Shoyakugaku Zasshi* 39: 243-245.
- Yamahara, J., Chisaka, T., Huang, Q., Kishi, K., Kobayashi, H. and Kawahara, Y. (1990) Gastrointestinal motility enhancing effect of *Saussurea radix*. *Phytotherapy Res.* 4: 160-161.
- Yamahara, J., Kobayashi, M., Miki, K., Kozuka, M., Sawada, T. and Fujimura, H. (1985) Chologogic and antiulcer effect of *Saussureae radix* and its active components. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 1285-1288.

7. Okugawa, H., Ueda, R., Matsumoto, K., Kawanishi, K. and Kato, A. (1996) Effect of dehydrocostus lactone and costunolide from *Saussurea* root on the central nervous system in mice. *Phytomedicine* 3: 147-153.
8. Chen, W. M., Mayer, R., Zimmermann, H. and

Ruecker, R. (1989) A non-oxidized melampolide and other germacranolides from *Aristolochia yunnanensis*. *Phytochemistry* 28, 3233-3234.

(1998년 12월 12일 접수)